

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ PATOLOJİ ANABİLİM DALI

**VEZİKULA SEMİNALİSTEKİ  
EPİTELYAL ATİPİDE VİRÜSLERİN ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**  
DR. YAKUP TAŞKIN

**TEZ DANIŞMANI:**  
DOÇ. DR. NUSRET AKPOLAT

ELAZIĞ-2008

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. ....

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

.....

.....Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve tezimin hazırlanmasında yardımcı olan tez danışmanım Doç. Dr. Nusret Akpolat' a, uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. İbrahim Özercan' a, yetişmemde emekleri geçen Prof. Dr. M. Reşat Özercan, Doç. Dr. Bengü Çobanoğlu ve Yard. Doç. Dr. A. Ferda Dağlı' ya, tezimin PZR kısmında yardımcı olan Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Yasemin Bulut' a, tezimin istatistik değerlendirmelerinde yardımcı olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Bilal Üstündağ' a, ayrıca EBV için primer dizaynında yardımcı olan GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ayhan Kubar ve Doç. Dr. Mehmet Yapar ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Bilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Cemalettin Canbay' a, HSV-2 virüs kontrollerinin temininde yardımcı olan Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Murat Ertürk ve Yard. Doç. Dr. Kurtuluş Burak' a ve tezimin tüm basamaklarında desteğini esirgemeyen araştırma görevlisi arkadaşlarıma, bölümümüz teknisyen ve çalışanlarına teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>1. ÖZET</b> .....	1
<b>2. ABSTRACT</b> .....	2
<b>3. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	3
3.1. Vezikula Seminalisin Normal Yapısı.....	3
3.1.1. Embriyoloji.....	3
3.1.2. Anatomi.....	5
3.1.3. Fizyoloji.....	7
3.1.4. Histoloji.....	9
3.2. Vezikula Seminalisin Gelişim Anomalileri.....	11
3.3. Vezikula Seminalisin Hastalıkları.....	12
3.3.1. Yaşlanmaya Bağlı Değişiklikler.....	12
3.3.2. Amiloidoz.....	13
3.3.3. Stromal Hyalin Cisimcikler.....	14
3.3.4. İnflamasyon.....	14
3.3.5. Kalsifikasyon ve Taşlar.....	15
3.3.6. Radyasyon Değişiklikleri.....	15
3.3.7. Vezikula Seminalisin Tümörleri.....	15
3.3.7.1. Epitelyal Tümörleri.....	16
3.3.7.1.1. Primer Adenokarsinom.....	16
3.3.7.1.2. Kistadenom / Papiller Adenom.....	18
3.3.7.1.3. Kistler.....	18
3.3.7.2. Mikst Epitelyal Stromal Tümörler.....	18
3.3.7.3. Mezenkimal Tümörler.....	20
3.3.7.4. Çeşitli Primer Tümörleri.....	22
3.3.7.5. Metastatik Tümörleri.....	22
3.3.7.5.1. Prostat Adenokarsinomu.....	22
3.3.7.5.2. Ürotelyal Karsinom.....	23
3.3.7.5.3. Rektal Adenokarsinom.....	23
3.3.7.5.4. Diğer Tümörler.....	23
3.3.8. Onkogenez.....	23
3.3.8.1. Virüsler ve Onkogenez.....	26
3.3.8.2. Viral Transformasyon Mekanizmaları.....	28

3.3.8.3.	Onkojenik DNA Virüsleri.....	32
3.3.8.3.1.	Epstein-Barr Virüs .....	32
3.3.8.3.2.	Human Polyoma Virüsler .....	35
3.3.8.3.3.	Herpes Simpleks Virüs .....	36
3.3.9.	Moleküler Tanıda Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	38
<b>4.</b>	<b>GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>41</b>
4.1.	Olguların seçimi ve hazırlanması.....	41
4.2.	Histopatolojik değerlendirme kriterleri.....	41
4.3.	Parafin blok kesitlerinden DNA izolasyonu, primerler, polimeraz zincir reaksiyonu.....	42
4.3.1.	DNA izolasyonu için örneklerin toplanması ve işlenmesi.....	42
4.3.2.	Cihazlar.....	42
4.3.3.	Kontrol virüsler.....	42
4.3.4.	Hücre kültürü ve virüs üretilmesi.....	43
4.3.5.	Kontrol virüslerinden DNA izolasyonu.....	43
4.3.6.	Polimeraz Zincir Reaksiyonunun deteksiyon limitinin saptanması.....	44
4.3.7.	Parafin blok kesitlerinden DNA izolasyonu.....	44
4.3.8.	Primerler.....	45
4.3.9.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	47
4.3.9.1.	B-Globin spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	47
4.3.9.2.	EBV ve HSV-2 virüsleri için spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	47
4.3.9.3.	BKV ve SV40 virüsleri için spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	48
4.3.10.	Agaroz jel elektroforezi.....	49
<b>5.</b>	<b>BULGULAR</b> .....	<b>51</b>
5.1.	Histopatolojik bulgular.....	51
5.1.1.	Atipi ve yaş ilişkisi.....	51
5.1.2.	İntranükleer inklüzyon ve yaş ilişkisi.....	52
5.1.3.	Atipi ve virüs ilişkisi.....	52
5.1.4.	Atipi ve viral yük ilişkisi.....	53
5.1.5.	Yaş ve virüs ilişkisi.....	53
5.1.6.	Eşlik eden karsinom ve yaş ilişkisi.....	54
5.1.7.	Eşlik eden karsinom ve virüs ilişkisi.....	55
5.1.8.	Eşlik eden karsinom ve viral yük ilişkisi.....	55
5.1.9.	İntranükleer inklüzyon varlığının virüslerle ilişkisi.....	56
5.1.10.	Nükleer pleomorfizm ve virüs varlığı.....	56

5.1.11.	Nükleol belirginliği ve virüs ilişkisi.....	57
5.2.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu bulguları.....	61
5.2.1.	HSV-1 ve HSV-2 virüslerinin üretilmesi.....	61
5.2.2.	B-Globin spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonuçları.....	61
5.2.3.	EBV ve HSV-2 virüsleri için spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu .sonuçları.....	62
5.2.4.	BKV ve SV40 virüsleri için spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu so- nuçları.....	63
<b>6</b>	<b>TARTIşMA.....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>74</b>
<b>8</b>	<b>ÖZGEÇMİş.....</b>	<b>85</b>

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> Vezikula Seminalis tümörlerinin sınıflandırması.....	16
<b>Tablo 2.</b> Vezikula Seminalis ve komşularının karsinomlarının immünoprofilı	18
<b>Tablo 3.</b> Hüresel transformasyonda viral mekanizmalar.....	30
<b>Tablo 4.</b> Bazı tümörlerde EBV antijenlerinin ekspresyonu.....	33
<b>Tablo 5.</b> Nükleer pleomorfizm ve nükleol belirginliğinin değerlendirilmesi...	41
<b>Tablo 6.</b> Vezikula Seminalisteki atipi varlığı ve derecelendirilmesi.....	42
<b>Tablo 7.</b> Çalışmada kullanılan primerler.....	46
<b>Tablo 8.</b> Atipi ve yaş ilişkisi.....	51
<b>Tablo 9.</b> İntranükleer inklüzyon ve yaş ilişkisi.....	52
<b>Tablo 10.</b> Atipi ve virüs ilişkisi.....	53
<b>Tablo 11.</b> Atipi ve viral yük ilişkisi.....	53
<b>Tablo 12.</b> Yaş ve virüs ilişkisi.....	54
<b>Tablo 13.</b> Eşlik eden karsinom ve yaş ilişkisi.....	54
<b>Tablo 14.</b> Eşlik eden karsinom ve virüs ilişkisi.....	55
<b>Tablo 15.</b> Eşlik eden karsinom ve viral yük ilişkisi.....	56
<b>Tablo 16.</b> İntranükleer inklüzyon ve virüslerin ilişkisi.....	56
<b>Tablo 17.</b> Nükleer pleomorfizm ve virüslerin ilişkisi.....	57
<b>Tablo 18.</b> Nükleol belirginliğinin virüslerle ilişkisi.....	58

## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.</b> 6 haftalık embriyoda gonadal gelişim.....	4
<b>Şekil 2.</b> Gelişimin 4. ayında erkek genital kanalları.....	5
<b>Şekil 3.</b> Vezikula Seminalisin anatomik yerleşimi.....	6
<b>Şekil 4.</b> Vezikula Seminalisin arka yüz komşulukları.....	7
<b>Şekil 5.</b> Vezikula Seminalisin histolojisi.....	9
<b>Şekil 6.</b> Vezikula Seminalisin histolojisi.....	10
<b>Şekil 7.</b> Polimeraz zincir reaksiyonunun aşamaları.....	40
<b>Şekil 8.</b> Seçilen primerin EBV genomunda temsil ettiği bölge.....	46
<b>Şekil 9.</b> Seçilen primerlerin BKV ve SV40 genomunda temsil ettiği bölge.....	47
<b>Şekil 10.</b> Vezikula Seminalisin normal histolojik görünümü.....	59
<b>Şekil 11.</b> Vezikula Seminaliste hafif epitelyal atipi.....	59
<b>Şekil 12.</b> Vezikula Seminaliste şiddetli epitelyal atipi.....	60
<b>Şekil 13.</b> Vezikula Seminaliste intranükleer inklüzyon.....	60
<b>Şekil 14.</b> $\beta$ -Globin spesifik polimeraz zincir reaksiyonunda pozitifliğin fotoğrafı.....	62
<b>Şekil 15.</b> EBV spesifik polimeraz zincir reaksiyonunda pozitifliğin fotoğrafı.....	62
<b>Şekil 16.</b> BKV spesifik polimeraz zincir reaksiyonunda pozitifliğin fotoğrafı.....	63
<b>Şekil 17.</b> SV40 spesifik polimeraz zincir reaksiyonunda pozitifliğin fotoğrafı.....	64
<b>Şekil 18.</b> HSV-2 spesifik polimeraz zincir reaksiyonunda pozitifliğin fotoğrafı.....	64



## KISALTMALAR

<b>VS</b>	: Vezikula Seminalis
<b>EBV</b>	: Epstein-Barr Virüs
<b>BKV</b>	: BK Virüs
<b>SV40</b>	: Simian Virüs40
<b>HSV-2</b>	: Herpes Simpleks Virüs Tip 2
<b>CEA</b>	: Karsinoembriyonik antijen
<b>PSA</b>	: Prostat Spesifik Antijen
<b>PAP</b>	: Prostatik Asit Fosfataz
<b>CK</b>	: Sitokeratin
<b>BBA</b>	: <b>Büyük Büyütme Alanı</b>
<b>SMA</b>	: Düz Kas Antijeni
<b>HMWCK</b>	: Yüksek Moleküler Ağırlıklı Sitokeratin
<b>PAS</b>	: Periyodik Asit Schiff
<b>MT</b>	: Mason Trikrom
<b>CDK</b>	: Siklin Bağımlı Kinaz
<b>TAg</b>	: Büyük T Antijeni
<b>tAg</b>	: Küçük t Antijeni
<b>İM</b>	: İnfeksiyöz Mononükleoz
<b>LPH</b>	: Lenfoproliferatif Hastalık
<b>BL</b>	: Burkitt Lenfoma
<b>HL</b>	: Hodgkin Lenfoma
<b>NHL</b>	: Non Hodgkin Lenfoma
<b>NFK</b>	: Nazofarinks Karsinomu
<b>LMP</b>	: Latent Membran Proteini
<b>EBNA</b>	: Epstein Barr Nükleer Antijeniii
<b>EBERs</b>	: EBV' nin kodladığı küçük RNA
<b>VCA</b>	: Viral kapsid antijeni
<b>TRAFs</b>	: <b>Tümör nekrotizan faktör reseptörleriyle ilişkili faktör</b>
<b><math>\alpha</math>-TIF</b>	: $\alpha$ -Trans inducing faktör
<b>VHS</b>	: Viral host shut
<b>MDBK</b>	: Madin Darby bovine kidney
<b>DMEM</b>	: Dulbecco' s Modified Eagle' s Medium

<b>CPE</b>	:	Sitopatik etki
<b>DEPC</b>	:	Diethylprocarbonate
<b>EDTA</b>	:	Ethylendinitrilotetraasetikasit
<b>FISH</b>	:	Floresan in situ hibridizasyon
<b>IHK</b>	:	İmmünohistokimya
<b>USG</b>	:	Ultrasonografi
<b>BT</b>	:	Bilgisayarlı tomografi

# 1. ÖZET

Vezikula Seminalis (VS) epitelinde 4. dekattan itibaren görülen, yaşla birlikte arttığı belirtilen atipik hücresel değişiklikler tanımlanmaktadır. Bu atipik hücreler bazen prostat iğne biyopsileri, üriner sitoloji olguları ve servikovajinal yaymalarda bulunmakta, çeşitli tanı problemlerine neden olmaktadır. Bu atipik hücresel değişikliklere sıklıkla intranükleer psödoinklüzyonlar da eşlik etmektedir. Bu değişikliklerin yaş ve virüsler ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Otopsi ve rezeksiyon materyallerinden elde edilen ortalama yaşı 59 (40-95) olan 60 olguya ait Vezikula Seminalis örneği rutin Hematoksilen-Eozinle boyanarak değerlendirildi. Histopatolojik incelemede olgularda atipi ve intranükleer inklüzyon varlığı araştırıldı. Tüm olgularda polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile EBV BKV, SV40 ve HSV-2 virüslerinin varlığına bakıldı.

Tüm olgular 60 yaş altı (n=30) ve 60 yaş ve üstü (n=30) şeklinde gruplandırıldı. Histopatolojik incelemede, olgularda atipi % 81.7 (49/60) ve intranükleer inklüzyon % 41.7 (25/60) oranında bulundu. PZR ile olgularda EBV % 51.7 (31/60), BKV % 25 (15/60), SV40 % 35 (21/60) ve HSV-2 % 18.3 (11/60) oranında saptandı.

PZR sonuçlarına göre, çalışılan virüslerin atipi, intranükleer inklüzyon varlığı ve yaşa göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ). EBV'nin karsinomla birlikteliği anlamlı bulunurken ( $p=0.02$ ) diğer virüslerle böyle bir ilişki saptanmadı. Ancak atipi varlığının yaş gruplarına dağılımında, ileri yaş grubuyla arasında negatif bir korelasyon saptandı ( $p=0.038$ ).

Sonuç olarak virüslerin VS epitelindeki atipinin oluşmasıyla nedensel bir ilişkisinin olmadığı kanısına varıldı. Ancak atipinin yaşla birlikte arttığını belirten çalışmaların aksine, bizim sonuçlarımız ileri yaş grubuna göre orta yaş grubunda atipi varlığının daha sık olduğunu göstermektedir.

**Anahtar sözcükler:** *Vezikula seminalis, epitelyal atipi, EBV, BKV, SV40, HSV-2*

## 2. ABSTRACT

### **The role of the viruses in epithelial atypia of the seminal vesicles.**

Atypical cellular changes that are seen after the 4th decade in seminal vesicles epithelia increase with age. These atypical cells are sometimes found in prostate needle biopsies, urinary cytology specimens and cervicovaginal smears and cause different problems in diagnosis. Intranuclear pseudo-inclusions commonly accompany these atypical cellular changes. The purpose of our study is to diagnose the association of these changes with age and viruses.

Autopsy and resection material of seminal vesicles are obtained from 60 cases whose mean age is 59 (ranging between 40-95). These materials are stained with routine hematoxylin and eosin. Presence of atypia and intranuclear inclusion are examined histopathologically. All cases are examined for EBV, BKV, SV40 and HSV-2 viruses by polymerase chain reaction.

All cases were divided in respect to age. 30 cases were below 60 years old and 30 cases were 60 or above 60 years old. By histopathologic examination, atypia is found in 81.7 % (49/60) and intranuclear inclusions is found in 41.7 % (25/60) of cases. By using polymerase chain reaction, EBV is found in 51.7 % (31/60), BKV in 25 % (15/60), SV40 in 35 % (21/60) and HSV-2 in 18.3 % (11/60) of cases.

Polymerase chain reaction results showed that no statistically significant difference is found between viruses in respect to atypia, intranuclear inclusion and distribution according to age ( $p > 0.05$ ). While association of carcinoma and EBV is found statistically significant ( $p = 0.02$ ), no such an association is found with other viruses and carcinoma. But in respect to distribution of atypia between age groups, negative correlation is found in advanced age ( $p = 0.038$ ).

In conclusion, we determined that no association is found between atypia of seminal vesicle epithelia and viruses. But contrary to other studies supporting the increase of atypia with age, we found that atypia is more common in middle age group when compared to advanced age.

**Key words:** *Seminal Vesicles, epithelial atypia, EBV, BKV, SV40, HSV-2*

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

Vezikula seminalislerde (VS) genellikle 4. dekattan itibaren başlayan ve yaşla birlikte derecesi artan belirgin bir epitelyal atipi gözlemlenmektedir. Atipik epitelyal hücreler yaşlı erkeklerin % 75' inde bulunmaktadır (1-3). Bu atipi olasılıkla hormon etkisiyle oluşan ya da yaşlanmayla birlikte gelişen involüsyonel dejeneratif bir değişiklik olarak yorumlanmıştır (1,4). Fakat bu atipideki hormonal etkinin mekanizması açık olmadığı gibi bu duruma yol açabilecek farklı nedenleri açıklamaya dönük çalışmalar da fazla değildir. Bu atipik epitelyal hücreler prostat iğne biyopsisi gibi sınırlı olgularda, üriner sitolojide ve servikovajinal sürüntülerde bulunmaktadır (5-12). Bu durumlar patolojik incelemede sıklıkla malignite tanısı açısından zorluk ve hatalara yol açmaktadır (13,3).

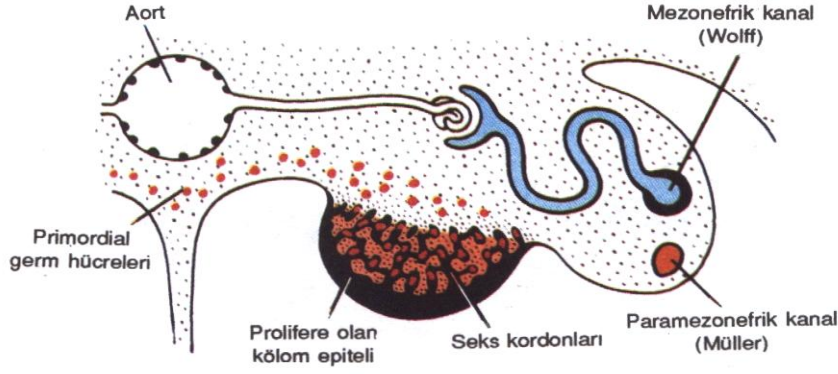
Öte yandan viral infeksiyonlar toplumda yaygın olarak bulunmakta, konakta latent kalmakta ve konağın immünesindeki değişikliklere göre kimi durumlarda hastalığa yol açmaktadır. Bu virüslerden Epstein-Barr virüs (EBV), Herpes Simpleks virüs tip-2 (HSV-2) ile BK virüs, JC virüs ve SV40 gibi alt tiplere sahip human polyoma virüsler toplumda üriner ve genital bölge infeksiyonlarında sıklıkla bulunmakta ve konağın yaşamı boyunca infekte dokularda kalmaktadırlar. Üstelik bu virüsler onkogeneze kofaktör ya da potansiyel etken olarak suçlanmaktadır (14-17).

Bu çalışmada VS' te izlenen atipi ile virüslerin ilişkisinin olup olmadığının polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

#### 3.1. Vezikula Seminalisin Normal Yapısı

##### 3.1.1. Embriyoloji

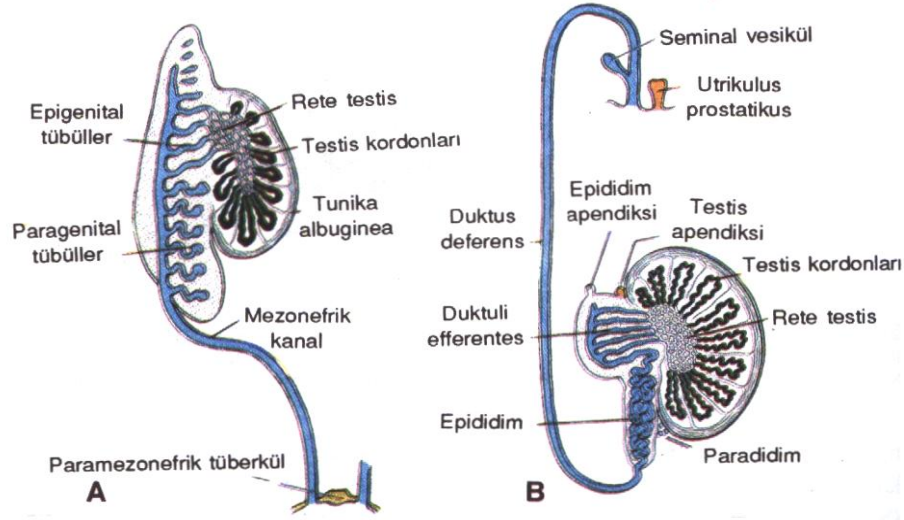
Embriyonun cinsiyeti fertilizasyonda genetik olarak belirlenir. Ancak erkek ya da dişi yönde gonadal ayrışma 7. haftaya kadar görülemez. Başlangıçta çöломik epitelin çoğalması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla beliren gonadal kabarıklıklara primordiyal germ hücreleri ancak 5. haftada ulaşır (Şekil-1).



**Şekil 1:** 6 haftalık embriyonun lumbal bölgeden geçen transvers kesitinde, pirimitif cinsiyet kordonlarıyla birlikte farklılaşmamış gonadın görüntüsü (18).

Primordiyal germ hücreleri yolk kesesi endoderminden köken alır ve fertilizasyondan yaklaşık 32 gün sonra gonadal kabarıklığındaki farklılaşmamış gonadlara göç eder. Genetik olarak erkek olan embriyoda primordiyal germ hücreleri XY cinsiyet kromozomu kompleksini taşır. Testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu etkisiyle pirimitif cinsiyet kordonları medüller kordonları oluşturarak testise farklılaşır. 4. ayda testis kordonları at nalı şeklini alır ve uçları rete testis olarak devam eder. Bu dönemde artık testis kordonları, pirimitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden kaynaklanan Sertoli hücrelerinden oluşmaktadır. Gonadal kabartının orijinal mezenşiminden köken alan Leydig hücreleri 8. haftadan itibaren testosteron salgısına başlar. Bu testosteron etkisiyle vajen alt parçasının obliterasyonu, ürogenital sinustan prostatın gelişmesi, mezonefrik (Wolffiyen) kanalların testiküler eferent kanallar, epididimis, vaz deferens, VS ve ejakülatör kanallara diferansiyasyonu ve Sertoli hücrelerinden salgılanan Mülleryan inhibe edici madde (antimülleryan hormon) etkisiyle paramezonefrik (Mülleryan) yapıların gerilemesi birbirini tamamlayan süreçler olarak gelişir (Şekil-2), (18,19).

VS ilk kez 1561’ de Fallopius tarafından açıklanmıştır. SV her iki duktus deferens ampullasının dorsolateralinden birer cepleşme şeklinde kabarır ve kalın bir kas tabakası ve dar bir lümeneye sahip ejakülatör kanal olarak devam ederek prostatik üretraya iki yandan açılır (18,19). En erken intrauterin yaşamın 4. ayında saptanabilen VS diğer organlara göre daha geç gelişir. VS epitelinde katlanma ve kriptlerin oluşturduğu basit primer kıvrımlar 5. ayın ortalarında saptanabilir. Lümeneye bakan epitelyal yüzeyin artmasını sağlayan bu kıvrımlar doğumda büyük bir kompleksiteye ulaşır (19).



**Şekil 2:** A. Gelişimin 4. ayında erkek genital kanalları. B. Genital kanalların testisin inişinden sonraki şekli (18).

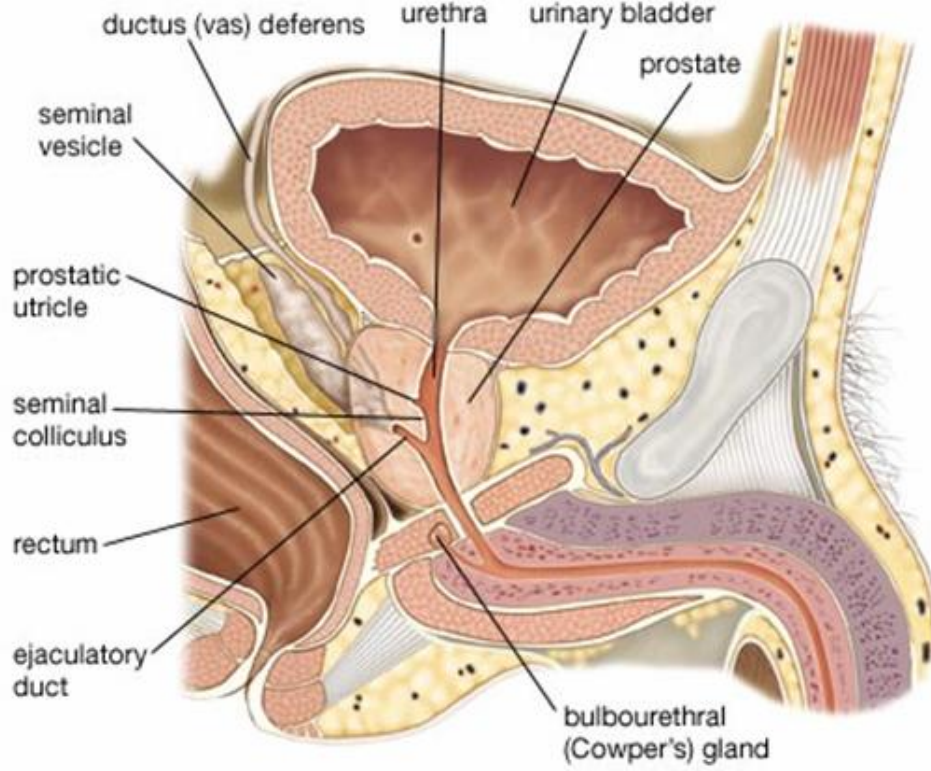
Doğumda epitelde sekretuar ve bazal hücreler belirgin olarak farklılaşmıştır. Sekretuar hücreler bir ya da daha fazla nükleollü nükleuslara sahip, elektron mikroskopunda çok sayıda mitokondri, golgi organeli, sitoplazmik inklüzyonlar içeren hücrelerdir. Bu hücreler erişkinde en fazla olup yüzeyle ilişkilidir. Bazal hücreler ise erişkinde daha az sayıda ve yüzeyle ilişkisizdir. Sitoplazmalarında inklüzyon ve diğer yağ damlacıkları içermeyen ve hücre organellerinden fakir, nükleuslarında seçilebilir nükleol bulunmayan hücrelerdir (19).

VS de pirimitif lamina propria ve aktif fibroblastlar 6. aydan itibaren saptanabilir. VS 18 yaşındaki bireyde lümen çevresinde yaygın epitelyal kıvrımlara sahiptir. Psödostratifiye epitel baskın olarak kolumnar hücrelerden ve arada seyrek bazal hücrelerden oluşmuştur. Tam seçilebilen bir lamina propria, içte sirküler ve dışta longitudinal tabakaya sahip bir tunika muskularis ve adventisya tabakalarından oluşur. Müsküler tabakanın ortalama kalınlığı 18 yaşında 0,3 mm iken 45 yaşında kalınlık 0,6 mm. ye ulaşır. Yaş artışıyla 4. dekattan itibaren epitelyal kıvrımlardaki fibrosellüler kor kalınlaşır ve bazıları birleşerek lümeni kapatır (19).

### 3.1.2. Anatomi

VS mesane arka yüzü ve rektum ön yüzü komşuluğunda yerleşmiş, yukarıdan aşağı, dıştan içe, arkadan öne doğru bir eksene sahip, ortalama 5 cm uzunluğunda, 2,5 cm çapında bir çift bezdir. Yukarıda kalan tabanı üreter son parçasıyla komşu ve kısmen peritonla örtülü olarak retrovezikal boşluğun tabanı ile, tepesi ise prostatla

ilişkilidir. Bezlerin iç kenarları duktus deferens ampullasıyla komşudur (Şekil-3). Şekil ve büyüklükleri kişiler arasında, hatta birbiri arasında farklılık gösterir. 10-15 cm' ye ulaşan ileri derecede kıvrımlı tübülleri dıştan ortak bir fibromüsküler kılıfla örtülü olduğundan rektal muayenede tek bir yapı olarak palpe edilebilir (20).

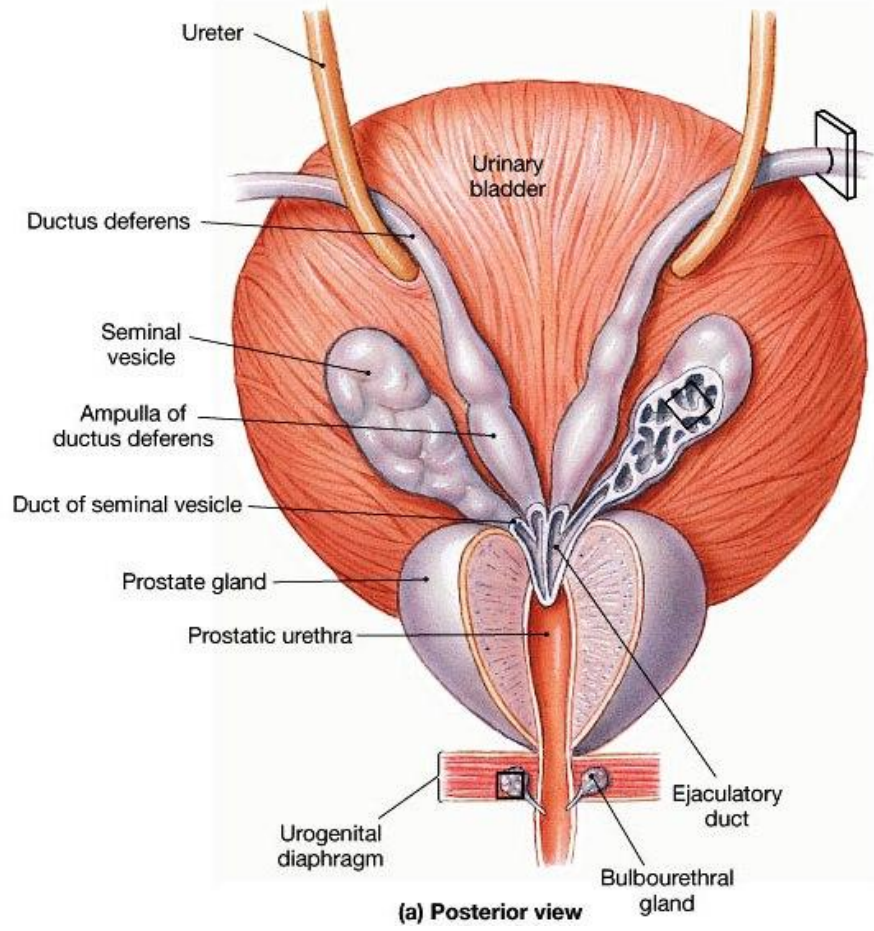


**Şekil 3:** VS anatomisi ve sagittal düzlemde komşulukları (21).

VS'lerin kanlanması, umbilikal arterin dalı olan vezikulodeferensiyel arter tarafından sağlanmaktadır. Buna ek olarak internal iliak arter kaynaklı inferior vezikal arterden bir komünikan arter gelir (20,22,23). Ayrıca VS ve prostatın kanlanması küçük varyasyonlar da gösterir. VS'lerin arka yüzünün beslenmesinde a. prostatovezikalisin en büyük dalı olan a. vezikalis posterior da önemlidir (22). Bunlar dışında a. rektalis media da arteriyel destek sağlamaktadır. Venöz drenajı ise vezikulodeferensiyel venlerden inferior vezikal pleksusa olmaktadır (23).

VS' in lenfatik drenajı internal iliak ve kısmen de eksternal iliak lenf düğümlerine olmaktadır(20,23).





**Şekil 4:** VS anatomisi ve arkadan komşulukları (21).

VS, pelvik sinir ve hipogastrik sinir tarafından innerve edilmektedir. Hipogastrik sinir seminal veziküle, adrenerjik ve kolinerjik lifler yollamaktadır. SV'in duvarında sinir ağı ve sempatik ganglionlar bulunur. Sempatik innervasyonu spinal kordun L1-L2, parasempatikleri S2-S4 segmentlerinden gelir (20, 23).

### 3.1.3. Fizyoloji

Lamina propriyayı döşeyen epitelin iç içe geçen aşırı mukozal kıvrımları ve cepleşmeleriyle oluşan tubuloalveoler yapıdaki VS, önceden kabul edildiği gibi spermatozoalar için bir depo yeri olmayıp, kendi salgısı olan bir çift bezdir. Salgısı, toplam semen volümünün yaklaşık % 70' ini ve ejakulat son kısmının yaklaşık % 50' sini oluşturur (24-26). Salgısı da gelişimi gibi testosteron etkisiyle olmaktadır. Serum testosteron düzeyindeki artış SV' den salgıyı artırır (27). SV, testosteronu aktif formu olan dehidrotestosterona dönüştüren 5 alfa redüktaz aktivitesine sahiptir. Ayrıca son zamanlarda lüteinize edici hormon ve insan koryonik gonadotropini için reseptörler taşıdığı da gösterilmiştir (24).

VS'in kalın düz kas tabakası ve üzerini tamamen örten fibromüsküler kılıf ejakülasyon sırasında kasılarak seminal sıvının üretraya atılmasına katkıda bulunur. Kasılması adrenerjik uyarıcı ve düzenleyici peptiderjik sinir liflerinden kaynaklanan nöropeptid Y-enkefalin maddesiyle olur (25). Salgının sinirsel kontrolü kolinerjik (muskarinik) ve adrenerjik nöronların birlikte etkisi altında gerçekleşir. Kolinerjik uyarı erkeklerde önemli bir sentez kaynağı VS olan nitrik oksit üretimini artırır. Nitrik oksit artışı da fruktoz salgısını artırır (24).

VS salgı fonksiyonu yanı sıra hasarlı spermatozoaların yıkım ve sindirimi, seminal sıvıda erimiş maddelerin ve sıvının geri emiliminde de rol alır (25).

Seminal plazmanın farklı fizyolojik işlevlere sahip değişik sekretuar ürünleri vardır. Seminal plazma, fruktoz (2 ng/ml), sitrik asit (4 mg/ml), prostaglandinler (200 mikrogram/ml), çinko (150 mikrogram/ml), laktoferrin, transferin, fibronektin, semenogelin gibi proteinler (40 mg/ml) yanı sıra proteazlar, esterazlar ve fosfatazlar gibi spesifik enzimler içerir (23,25).

Seminal plazma fertilizasyon için mutlak gerekli olmasa da erkekte ve üstelik kadında üreme yollarında sperm geçişini hızlandırarak, sperm hareketliliğini ve sperm kromatin stabilitesini artırarak, sperm beslenmesine katkıda bulunup ömrünü uzatarak fertilizasyon için ideal koşulları sağlayabilir. Ayrıca VS' den spermatozoa ve embriyoya karşı kadın üreme yollarında oluşabilecek immün yanıtı koruyucu ürünler de salgılanır (24,28,29). Hayvan modellerinde erkek genital yollarında antibakteriyel etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir (29). Ayrıca bu özellik insan SV' inde de bildirilmiştir (30).

Ejakulasyonda sıvı olan semen VS salgılarıyla temas ettiğinde pıhtılaşır. Pıhtıyı oluşturan proteinler, kimotripsin benzeri proteazlar, bir serin proteaz olan prostata spesifik antijen ve farklı biyolojik işlevli peptidlerce hızla parçalanır (24).

Seminal plazma semen içeriğinin vizkozitesinde belirleyicidir. Yüksek vizkozite düşük sperm hareketliliği ve infertiliteyle ilişkilidir. Seminal plazma semen vizkozitesinin azalmasında yardımcıdır (31).

Seminal plazma içinde sperm hareketliliğini artırıcı bikarbonat, potasyum, magnezyum, 19 hidroksi prostaglandin ve prolaktin gibi maddeler bulunur (32,33). Ejakulasyondan hemen sonra gelişen ve tüm spermatozoaların seminal plazmayla temasını sağladığı belirtilen pıhtılaşmanın temel bileşeni olan sperm motilite inhibitörü madde hızla daha küçük peptidlere ve esas olarak da prekürsörü olduğu semenogelin-1' e dönüşür. Bu da sperm kapasitasyonunda düzenleyicidir (24).

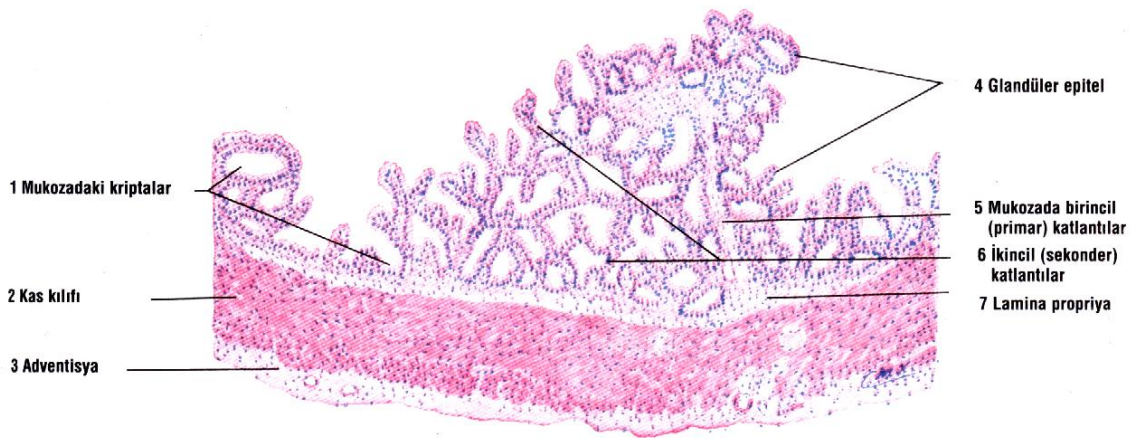
Seminal plazma, spermi serbest oksijen türevlerinden koruyan antioksidanlar olan süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz / redüktaz yanı sıra askorbik asit, ürik asit ve tiollerden zengindir (24).

Seminal plazmada, VS tarafından salgılanan, serumdaki düzeylere göre daha yüksek ve buradaki işlevi henüz açıklanamamış insülin ve benzeri peptidler de bulunmuştur (24).

VS' in fonksiyonunun değerlendirilmesinde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) seminal fruktoz ölçümünü kullanmaktadır. Birçok çalışmada da sperm sayısı ve seminal fruktoz konsantrasyonları arasındaki ters orantı kanıtlanmıştır. VS' de fruktoliz aktivitesi yoktur ve fruktoz sperm tarafından parçalanır (24). Azoospermik ve oligozoospermik bireylerde bu parçalanma daha az olacağından bu yöntem yardımcı olamayacaktır. Bu durumlarda VS fonksiyonunun değerlendirilmesinde, seminal fruktozun sperm konsantrasyon logaritması ile elde edilen düzeltilmiş fruktoz düzeyi ya da motil sperm sayısını dikkate alan tam düzeltilmiş fruktoz düzeyi gibi ölçümler gerçek bir değerlendirme için yeni yöntemler olarak önerilmektedir (34-36).

#### 3.1.4. Histoloji

VS belirgin kıvrım ve cepleşmeler oluşturan tubuloalveoler bir bezdir. Kesitlerde duvar tamamen kompleks primer çıkıntılar ve sayısız ince sekonder çıkıntılar gösterir. Sıklıkla birbiriyle anostomozlaşan çok sayıda kript ve kaviteler bulunur. Kalın çıkıntılar içerisinde bir kor halinde lamina propriya uzanırken küçük çıkıntılarda ince bir stroma yer alır (Şekil 4), (37).

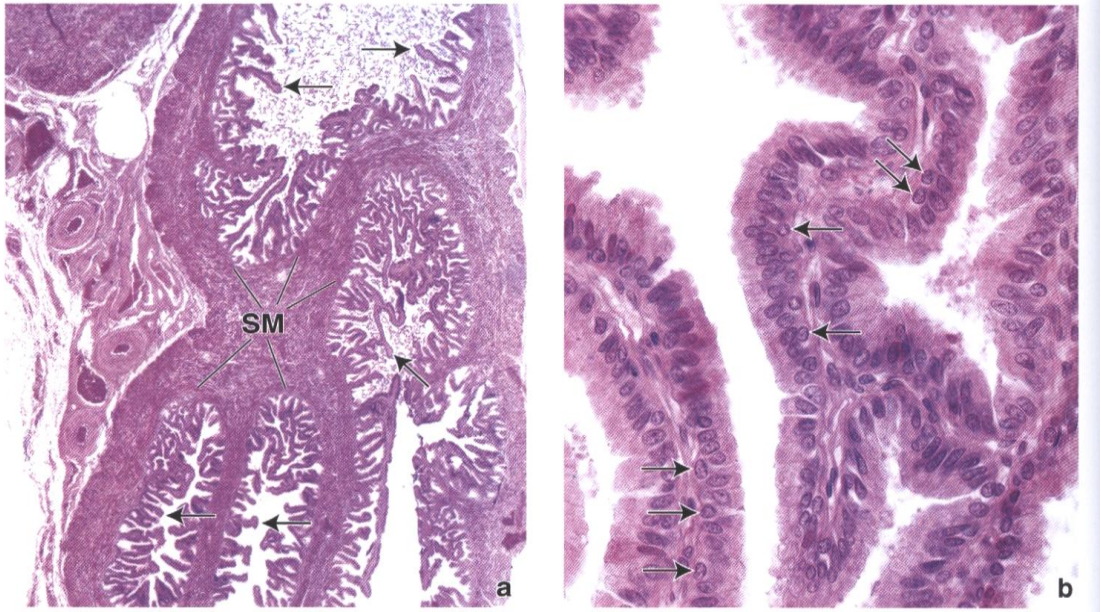


Şekil 5: VS histolojisi (37).

Epitel genellikle çok sayıda, yüzeyle ilişkili, sekretuar ancak silyasız, kısa silindirik/küboidal hücreler ve az sayıda, yüzeyle ilişkisiz bazal hücrelerden oluşmuş yalancı çok katlı niteliktedir. Bazen basit tek katlı görünüm alabilir (38).

Yetişkinlerde baskın olan, silindirik hücreler elektron mikroskopunda çok sayıda mitokondri, golgi cisimciği, iyi gelişmiş ribozomal endoplazmik retikulum, apikal sitoplazmada büyük salgı vakuolleri, yağ damlacıkları ve sitoplazmik inklüzyonlar içeren bir ya da daha çok nükleoluslu nükleuslara sahip, yüzeyle ilişkili hücrelerdir (19, 39). Bu hücrelerin sitoplazmalarında lipofuksin için pozitif, insan pigmentlerinin iyi bilinen üyesi demir için negatif reaksiyon veren, ayrıca esteraz ve asit fosfatazla pozitif boyanma gösteren sarı-kahverengi pigment sıklıkla bulunur. Olasılıkla yaşlanmayla ilişkilendirilen ve basit pigment granülleri olarak tanımlanan bu granüllerde lizozomlarla ilişkili esteraz ve asit fosfataz aktivitesi gösterilmiştir. Buna dayanarak VS pigmentlerinin lizozomal kökenli olabileceği öne sürülmüştür (40).

Bazal hücreler ise bazal laminada yerleşmiş, daha seyrek, silindirik hücrelerin kaynağı olan, yüzeyle ilişkisiz, sitoplazmalarında salgı granülleri ve yağ damlacıkları içermeyen, nükleuslarında nükleol bulunmayan daha az hücre organeline sahip hücrelerdir (Şekil:5), (19,39).



**Şekil 6:** VS histolojisi (SM: Düz kas, oklar: Bazal hücreler), (a:H&Ex200, b: H&Ex500).

Epitel altında elastik liflerden zengin, primer kıvrımlara da uzanan, ince bir düz kas tabakasıyla çevrili lamina propriya bulunur. İyi seçilebilen lamina propriyanın dışında, içte sirküler, dışta longitudinal katmanları olan kas tabakası ve en dışta adventisya yer alır. Yaşla birlikte kas tabakasının kalınlığı artmaktadır. Aynı kalınlaşma epitelyal kıvrımların fibroselüler korunda da oluşmakta ve bunların bir kısmı birleşerek lümeni tümüyle kapatabilmektedir (19,37-39).

### **3.2. Vezikula Seminalisin Gelişim Anomalileri**

VS' in primer anomalileri seyrek olmasına karşın erkek üreter tomurcuğu ve mezonefrik kanalların embriyolojik ve anatomik olarak yakın ilişkisi nedeniyle, genellikle üriner sistem anomalileriyle birlikte dir. Üreter tomurcuğunun nefrojenik blasteme diferansiyasyon uyarısının ve üreter uzama bağlantısının başarısızlığı bu durumun başlıca nedenidir (1,41-43).

VS' in seyrek olmakla beraber en önemli anomalisi olan kistler edinsel bir durum olarak da bulunabilmektedir. Doğumsal kistler hemen her zaman tek taraflı, edinilmiş kistlerse genellikle tek taraflıdır (41). VS kistlerinin aynı taraf renal ageneziyle birlikteliği ilk kez 1914' de saptandıktan sonra bu kistlerin diğer birçok anomaliyle beraber olabileceğine dair 200 civarında olgu rapor edilmiştir (41,44).

VS kistleri seyrek tir ve doğumsal ya da kazanılmış olabilir. Semptomları belirsiz olup ejakülasyon ve defekasyon sırasında perine ağrısı, dizüri, idrar retansiyonu ve tekrarlayan epididimiti içerir. Doğumsal kist, olguların %80' inde, aynı taraf renal agenezi ve yaygın üreter ektopisi ya da agenezisiyle beraberdir (1). Genellikle 18-41 yaşları arasında ve büyük çoğunluğu beyaz ırkta görülmektedir. Doğumsal kistler genellikle tek taraflı ve tek gözlü, dıştan orta hatta doğru ve normal VS' den 3 kat daha büyük, mülleryan kanal artığı kistlerinden ise oldukça küçüktür. Genişleme seminal sıvının yetersiz boşalmaya bağlı birikmesinin sonucudur. Kistin içeriği VS' in olağan salgısına benzer özellikte, koyu kıvamlı, soluk beyazdır. Kistler kalınlığı değişen fibröz bir duvara ve küboidal ya da yassılaştırmış epitele sahiptir. İleri derecede genişleme hidrops ya da hidrosel olarak tanımlanır.

Doğumsal kist gelişiminde ejakülatör kanallarda obstrüksiyon dolayısıyla distal mezonefrik kanaldaki anomalilerin rol oynadığı belirtilmektedir. Üreter tomurcuğunun hatalı gelişimi, üretelerin VS, prostatik üretra, vas deferens, epididimis ya da ejakülatör kanallarda sonlanmasıyla ortaya çıkan üreter ektopisine yol açar. Yakın embriyolojik ilişki nedeniyle VS, prostatik üretradan sonra en sık ektopik üreter açı-

lim yeri olarak karşımıza çıkmaktadır (41,45,46). Üreteral ektopi sıklıkla aynı taraf böbrekte disgenezi veya karşı taraf böbrekte hipertrofi ve VS' de ureteroselle beraber olan dilatasyon ve büyümeyle karşımıza çıkabilir (1).

Üreter tomurcuğunun bu distal anomalisine ek olarak metanefrik blastemle füzyon anomalisi sonucu renal displazi, hipoplazi, agenezi veya duplikasyon gibi renal anomaliler de VS' e ektopik üreter açılmasıyla birlikte bulunabilmektedir (41,47). Bunların dışında VS kistleriyle beraber erişkin polikistik böbrek hastalığı, hemivertebral, infertilite, vas deferens atrezisi, ve aynı taraf testis yokluğu da bildirilen diğer seyrek anomalilerdir (41,48-51). Çok daha seyrek olarak VS hipoplazi, aplazi ve füzyon defektleri de bildirilmiştir (52).

VS malformasyonları sıklıkla diğer mezonefrik yapıların gelişim anomalileriyle beraber olarak bildirilmişse de izole hipoplazi, agenezi ve kistleri de rapor edilmiştir. Tek taraflı VS yokluğu, azalmış semen volümü, hipospermi ya da azospermi, zayıf sperm hareketi, asidik ejakulat ve fruktoz ve koagülasyon aktivitesi yokluğuyla sıklıkla beraberdir. Bu erkeklerin % 37,5'i infertildir ve tek taraflı bir anomaliye işaret eder. Tek taraflı VS duplikasyonu da sıradışı bir anomalidir. VS cerrahisi genellikle doğumsal malformasyonların değerlendirilmesi için uygulanmıştır (1).

### **3.3. Vezikula Seminalisin Hastalıkları**

#### **3.3.1. Yaşlanmaya Bağlı Değişiklikler**

VS' de 3. dekattan itibaren atipik hücreler gösterilmiştir (2). Gençlerde silindirik hücrelerle döşeli epitel zamanla yerini düz, küboidal hücrelere bırakır. İlk 5 dekatta epitelin % 50' sini oluşturan silindirik hücreler 8. dekatta % 2' ye kadar azalır. Yaşlanmayla beraber VS stroması hyalinize olmaya başlar ve fibrotikleşir (1). Epiteldeki yassılaşma 4. dekattan itibaren çarpıcı nükleer anormalliklerle beraberdir ve yaşlı erkeklerin yaklaşık % 75' inde bu aşırı atipik hücreler bulunur (2,53). Bu hücreler kaba kromatinli, iri nükleollü, büyük, düzensiz, hiperkromatik nükleuslara sahiptir. Üstelik dev, sirküler, intranükleer sitoplazmik inklüzyonlu multinükleer hücreler de bulunabilir. Mitotik figürler yoktur. Kesin nedeni bilinmeyen bu nükleer anormalliklere 20 yaş öncesinde rastlanmamaktadır. Yaşlanmaya bağlı dejeneratif bir değişiklik olduğu ya da gonadotropinlerin salınımı ve testosteronun periferik kullanımının azalması gibi hormonal nedenlerle oluştuğu öne sürülmektedir (54). Prostat iğne biyopsilerinde bulduklarında psödomalign sitolojik atipi gibi değerlendirile-

rek prostat kanseri tanısında hataya yol açmaktadır (10). Prostatik masajla elde edilen sıvıların sitolojik incelemesinde de intakt VS hücreleri sıklıkla lümeneye dökülerek tanı karışıklığına neden olabilir (9). Prostatik aspiratlarda ejakulatör kanallar ve VS kaynaklı hücreler sitolojik olarak ayırt edilemeyebilir. İçerdikleri karakteristik lipofuksin pigmenti tanınmalarına yardımcı olabilir (55). DNA ploidi analizleri VS' de % 6.7 oranında anöploidi varlığını ortaya koyar (56,57). Bu nedenle VS' le kontamine prostat kanserli olguların sitofotometrik DNA analizleri yanlış pozitiflik olasılığı taşır. Sitolojik atipi varlığı ve sıklığıyla, bir örneğin düşük anöploidi düzeyi kabul edilebilir bir tahmin sağlamaz (1).

VS hücreleri servikovajinal yaymaların % 10' unda, spermatozoalarla beraber bulunabilir ve tanı karışıklığına neden olabilir. Bu hücreler köpüksü sitoplazmalıdır ve az miktarda pigment içerirler. Hafif anizokorik, veziküler kromatinli hiperkromatik nükleuslara sahiptirler (6,7,58).

### **3.3.2. Amiloidoz**

VS' in lokalize/senil amiloidozu otopsielerde 44-60 yaş arası olanlarda %5-8, 61-75 yaş arası olanlarda %13-23 ve 75 yaş üstü olanlarda % 21-34 olarak yaşla artan bir korelasyon göstermektedir (59-61). Sıklıkla iki taraflı ejakulatör kanallar boyunca, amorf eozinofilik fibriler materyalin subepitelyal olarak, yoğun nodüler ya da lineer depozitleri halindedir. Bazal membran kalınlaşması görülebilir ve depozitler veziküler lümenlerde, bazen lümeni önemli oranda daraltacak ölçüde bulunabilir. Bazen kalsifikasyon veya yabancı cisim dev hücre reaksiyonuyla beraberdir (61).

Bunun aksine sistemik amiloidozun VS' i etkilemesi seyrek ve damar duvarları, düz kaslar ve stromayı tutar. VS amiloidozu genellikle asemptomatiktir fakat hematospermi, kronik perine ağrısı ya da seminal vezikülit benzeri genel yakınmalara yol açabilir. Bu durum pelvik Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) dışındaki görüntüleme yöntemleriyle saptanamaz. Prostat ya da mesane karsinomunun invazyonunu andırabilir (62,63).

Lokalize ve sistemik amiloidoz birlikte bulunabilir. Amiloidoz tanısı Kongo-Red, Metilen mavisi, Kristal viole, Toluidin mavisi, Peryodik Asit Schiff (PAS) ve Alcian mavisi gibi boyalarla doğrulanabilir. Lokalize VS amiloidozunun permanganata duyarlı non AA, non B2M, non prealbümin tip gibi histokimyasal özellikleri onu diğer yerlerden kaynaklanan hafif zincirler ve serum amiloid proteini kökenli amiloidden ayırdetmeye yardımcı olabilir (10).

### 3.3.3. Stromal Hyalin Cisimcikler

VS, prostat ve vas deferensin kas tabakasında 10-20 mikronluk eozinofilik, hyalin cisimcikler gözlemlenmiş ve stromal hyalin cisimcikler olarak tanımlanmıştır. Bu yuvarlak, oval yapılar, düz kas fibrillerinin olası dejenerasyon ve değişimine bağlanmıştır. Bunlar Mason-Trikromla kırmızı, PAS' la pembe boyanabilirken, Metil yeşil pironin, Feulgen, Alcian mavisi ve Kongo redle boyanmaları başarısızdır (1,2).

### 3.3.4. İnflamasyon

Seminal veziküller, prostat, mesane, ejakülatör kanal, vas deferens ve epididimis gibi komşu organların infeksiyon ve inflamasyonlarıyla birlikte. Akut vezikülit genellikle, kateter uygulaması, üretral ya da ejakülatör kanal darlık veya anatomik anomalisi, taş ya da cerrahi travmaya bağlı veya bu nedenler olmaksızın gelişen retrograd infeksiyon nedeniyledir. Androjen verilerek oluşturulan salgı azalması dışında VS' in infeksiyonlara karşı yüksek dirençli olduğu rat çalışmalarında gösterilmiştir (64). Akut prostatit için kullanılan bazı ajanlarla yapılan antibiyoterapinin etkinliği görülmüştür. Böyle olgularda apse ve striktür oluşumu nedeniyle biyopsi kontrendike olabilir (1).

VS apsesi olan olgularda iritatif miksiyon, ateş, skrotum, testis, perine ya da rektumda ağrı yakınması olur. Ultrasonografi (USG), Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve MRG tanının doğrulanmasında kullanılabilir ve doğrudan transüretral insizyon ve drenaj uygulanabilir (1).

Akut vezikülit, kronik prostatitle birlikte bulunabilir ve her ikisi de yetersiz antibiyotik tedavisi sonrası oluşur. Antibiyotik kullanımı öncesi en yaygın kronik vezikülit nedeni tüberkülozdu (65,66). VS tüberkülozu perineal fistül, fibröz adezyonlar, ejakülatör kanal striktürleri ve önceki nekrotizan granülom yerlerinde VS duvarında yaygın sirküler kalsifikasyonlar oluşturmaktadır. Prostatektomi sonrası VS' de dilatasyon ve konjesyon ortaya çıkabilir ve inatçı dizüriyle sonuçlanabilir (1).

VS' de şistozomiyazis genellikle mesanenin S. Haematobium infeksiyonuna sekonder oluşur ve VS' i prostattan daha çok tutar (67). Yakın zamanda VS' de izole klamidyal vezikülit olgusu da rapor edilmiştir (68).

Virüsler, mantarlar ve parazitler seyrek olarak seminal vezikülite neden olabilir. VS ve prostatta ekinokokal kist de rapor edilmiştir (69,70).

Akse, fistül ya da striktür oluşmadıkça seminal veziküller için cerrahi gerekmez. 20. asır başlarında romatoid hastalığa yol açtığı düşüncesiyle ve



antibiyoterapi öncesinde VS tüberkülozu için perineal seminal vezikülektomi popüler bir tedavi seçeneği olmuştur (1).

### **3.3.5. Kalsifikasyon ve Taşlar**

Kalsifikasyon özellikle tüberküloz olmak üzere sıklıkla seminal vezikülitini takiben oluşur. Üremi ve diyabet hastalarında tablo kroniktir ve VS'lerin yanı sıra diğer mezonefrik yapılarda da distrofik kalsifikasyonlar görülebilir. Çoğu kalsifikasyon odağı asemptomatiktir ve pelvis görüntülemelerinde rastlantısal olarak saptanabilir. Tek ya da çift taraflı olabilir ve genellikle beraberinde vas deferens kalsifikasyonu da vardır. Sıklıkla konsantrik halkalar şeklindedir. Osseöz metaplazi duvarda oldukça seyrek görülür (1).

VS taşları vas deferensten daha sıktır ve 1 cm çapa ulaşabilen, değişen sayıda kahverengi taşlardır. Genellikle fosfat ve karbonat tuzlarından oluşur. Oluşum mekanizması bilinmemekle birlikte idrarın ejakulatör kanallara reflüsünün neden olabileceği öne sürülmektedir (71,72).

### **3.3.6. Radyasyon Değişiklikleri**

Genellikle prostat karsinomu için uygulanan radyoterapi sonrası gelişir. Hastaların % 89' unda periveziküler yağ ve VS' te atrofi ve fibroze yol açar (74). Kalan VS epitelinde altınsı kahverengi lipofuksin pigmenti karakteristiktir. Olguların % 37' sinde MRG' de lüminal sıvıda azalma ve stromal fibrozis görülür (74,75)

### **3.3.7. Vezikula Seminalis Tümörleri**

VS tümörleri, Dünya Sağlık Örgütü tarafından en son 2002 yılında yapılan histolojik sınıflandırma tablo 1' de özetlenmiştir.

#### **3.3.7.1. Epitelyal Tümörleri**

##### **3.3.7.1. 1 Primer Adenokarsinom**

VS' lerde primer adenokarsinomlardan daha çok, başta prostat karsinomu olmak üzere sekonder tümörler görülür. Bununla birlikte VS' de 100' e yakın primer karsinom rapor edilmiştir. Bunların çoğu da klinik dökümantasyon açısından zayıftır ve patolojik tanıları da sıklıkla sorgulanabilir durumdadır (1). Primer VS karsinomu kesin tanı kriteri, birlikte varolan prostat, mesane veya rektum karsinomunun dışlanmasıdır (76). VS' in primer adenokarsinomu tanısı verebilmek için bir takım kriterler önerilmiştir. Buna göre; tümör primer olarak VS yerleşimli olmalıdır. Prostat, mesane ya da kolonda karsinom bulgusu olmamalıdır. Bitişik VS epitelinde in situ

adenokarsinom olmalıdır. Adenokarsinomun genellikle papiller yapılar, tabakalar ya da müsinöz diferansiasyon gibi yapısal özellikleri bulunmalıdır. Tümör hücrelerinde Karsino Embriyonik Antijen (CEA)' le sitoplazmik reaktivite görülmelidir. Prostat Spesifik Antijen (PSA) ve Prostatik Asit Fosfataz (PAP) ile immün reaktivite yokluğu gösterilmelidir (1).

**Tablo 1: VS Tümörlerinde DSÖ 2002 Histolojik Sınıflaması (76):**

**1. Epitelyal tümörler:**

- Adenokarsinom
- Kistadenom

**2. Mikst epitelyal ve stromal tümörler:**

- Malign
- Benign

**3. Mezenkimal tümörler:**

- Leiomyosarkom
- Anjiosarkom
- Liposarkom
- Malign fibröz histiositom
- Soliter fibröz tümör
- Hemanjioperisitom
- Leiomyom

**4. Diğer tümörler:**

- Koryokarsinom
- Olası Wolfiyan kökenli erkek adneksiyal tümör

**5. Metastatik tümörler**

Adenokarsinomlar VS' in en sık primer malignitesidir. Kabul edilebilir rapor edilmiş olgu sayısı 50' nin altındadır. Ortalama görülme yaşı 62 (17-90) olup 40 yaş altında 10 olgu bildirilmiştir. Başvuru şikayetleri genellikle hassas olmayan bir perirektal kitleye bağlı tıkanma üropatisi, daha az olarak da hematüri veya hematospermidir. Serum CEA düzeyleri 10 ng/dl' nin üzerine çıkabilir. USG, seminal vezikülografi ve BT bu tümörlerin saptanmasında kullanılabilir (76).

Tümör çapı genellikle 3-5 cm kadardır ve sıklıkla mesane, üreter veya rektumu tutar. Tümörler diferansiyasyonun farklı dereceleriyle, papiller, trabeküler ve glandüler paternlerin karışımını içerebilir. Kolloid özellikler taşıyan olgular da bildi-

rilmiştir (76). İleri evre, kötü diferansiye adenokarsinomlarda tümörün orijinal yerinin saptanması imkansız olabilir. Tümör hücreleri, silindirik, poligonal veya kabarcıvısi şekilli, seyrek olarak lipofuksin içeren berrak sitoplazmalı olabilir (1,76). PSA ve PAP kullanımı prostatik bir primerin dışlanması için önemlidir. Kötü diferansiye olanlar dışındaki VS adenokarsinomlarının CK7, ve CA-125' le pozitif, CK20 ve PSA/PAP' la negatif reaktivite gösteren immünofenotipinin ayırıcı tanıda çok yardımcı olacağı gösterilmiştir. Bu özellikleriyle CA-125 negatif ve PSA/PAP pozitif olan prostatik adenokarsinomdan, CA-125 negatif ve CK20 pozitif olan mesane değişici epitel karsinomundan, CK7 ve Ca-125' le negatif, CK20 ile pozitif olan rektal adenokarsinomdan ve Ca-125' le negatif mesane adenokarsinomu ve müller kanalı kaynaklı adenokarsinomdan immünohistokimyasal olarak ayırıcı tanısı mümkündür (Tablo 2). Normal ve malign SV epiteli CEA ile reaktivite gösterebilir. CEA dışında, prostatik adenokarsinomların çoğundan farklı olarak CK7 pozitif, mesane ve kolon karsinomlarından farklı olarak CK20 ile negatif ve müller kanalı ve daha yukarılarından köken alan adenokarsinomlardan farklı olarak CA-125 ile pozitifdir (76).

VS adenokarsinomlarının prognozu kötüdür. Ancak adjuvan hormon tedavisi yararlı olabilir. Olgular genellikle başvuru esnasında metastazlıdır ve % 95' inde sağkalım üç yıldan azdır. 48 olgunun beşinde 18 aydan fazla sağ kalım bildirilmiştir (76).

**Tablo 2:** VS ve komşu organ adenokarsinomlarının ayırıcı tanısında immünoprofil

	VSK	PK	M/MKKK	ÜK	RK
CA-125	+	-	-	-	-
PSA	-	+	BY	-	BY
PAP	-	+	BY	-	BY
CK7	+	-	BY	-	BY
CK20	-	-	BY	+	+

**VSK:** Vezikula seminalis karsinomu, **PK:** Prostat karsinomu, **M/MKKK:** Mesane/Müller kanalı kaynaklı karsinom, **RK:** Rektum karsinomu, **BY:** Bilgi yok, **CA:** Karsinom antijeni, **PSA:** Prostat spesifik antijen, **PAP:** Prostatik asit fosfataz, **CK:** Sitokeratin.

### **3.3.7.1.2. Kistadenom/Papiller Adenom**

Kistadenomlar VS' in seyrek benign tümörlerindendir. Sternberg' e göre ileri yaşlardaki bireylerde görüldüğü belirtilmekle beraber genellikle 37-66 yaş arasında, ortalama 60 yaşında görülür. Çoğu asemptomatiktir ve otopsilerde rastlantısal olarak bulunur(1,76). Bazen mesane çıkış obstrüksiyonu belirtileri olabilir. USG ve BT ile solid/kistik kompleks bir pelvik kitle, tipik bal peteği görünümüyle saptanabilir. 5-15 cm çapa ulaşabilir. Histolojik olarak iyi sınırlı olan bu tümör değişken boyutlarda, dallanan glandüler boşluklar içerir ve kronik inflamasyon içeren, iğsi hücreli gevşek fibröz ya da fibromusküler stromayla kuşatılmıştır (1). Bezler bir ya da iki katlı küboid veya kolumnar hücrelerle döşeli, soluk, intralüminal sekresyonlar içeren, kaba, lobüler kümelenmeler halindedir. Mitotik aktivite, veya nekroz ve anlamlı sitolojik atipi bulunmaz. Cerrahi yetersiz olduğunda nüks görülebilir (76).

### **3.3.7.1.3. Kistler**

VS kistleri doğumsal ya da edinilmiş olabilir. Edinilmiş kistler kronik prostatit gibi bir inflamasyona sekonder bir obstrüksiyon sonucu oluşur ve genellikle tek taraflı ve ünilokülerdir (78). Ackerman ise multiloküler olduğunu belirtmiştir. Daha çok 20 yaşındaki bireylerde görülür. Kistler duktuslardan kaynaklanır ve rektum ve mesane tabanı arasında yumuşak kistik kitle olarak bulunur (79).

### **3.3.7.2. Mikst Epitelyal-Stromal Tümörler:**

Bir olgu dışında tümü tek VS' de yerleşir. Hastalar dizüri, pollaküri, idrar retansiyonu ve hemospermi gibi üriner semptomlarla başvururlar. Olgular 33-70 yaş arasındadır. Rastlantısal olarak otopside saptanan bir olgu dışında çoğunda radikal cerrahi uygulanmıştır (77). Bu grupta kistomyom, kistadenom, mezonefrik hamartom, papiller kistadenom, kistik epitelyal-stromal tümör, mülleryan adenosarkom benzeri tümör, fillodes tümör ve sistosarkoma fillodes gibi değişik adlandırmalar altında 14 mikst epitelyal-stromal tümör olgusu bildirilmiştir (80-83). DSÖ, VS kistadenomlarını VS' in mikst epitelyal-stromal tümörleri dışına çıkarmakta ve bu tümörler için kriterler önermektedir. Buna göre bu tanının verilmesi için tümör; VS' den kaynaklanmalı, tümör içinde normal VS bulunmamalı, genel olarak prostat invazyonu olmamalı ve prostatik markerler ve CEA' le immünreaktivite göstermemelidir (76).

Mikst epitelyal-stromal tümörler, memenin fillodes tümörünün tipik histolojik özelliklerini gösterebilir. Tek histolojik kriter üzerinden tümör davranışının belirlenmesi önerilmemektedir. Bunun yerine tümör boyutu, sınırları, stromal atipi, mitotik figürler ve bezlerin stromaya giriş tarzı gibi özelliklerin bir arada değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu yaklaşımla Fain ve arkadaşları bu tümörlerde, fibroadenom, düşük dereceli ve yüksek dereceli fillodes tümör terimlerini, Baschinsky ve arkadaşları ise benzer parametrelerle, düşük, orta ve yüksek dereceli bifazik tümör terimlerini kullanır (84,85).

Mikst epitelyal-stromal tümörler 15 cm çapa ulaşabilen, lobüle kontürlü, düz yüzeyle, kesit yüzeyinde kanlı sıvıyla dolu, düzgün kistler içerebilen kitleler oluşturabilir. Mikroskobik olarak tümörler, benign karakterde 2-3 katlı, küboid/kolumnar epitelle döşeli, uzamış ve bazıları yaprak görünümü almış bezler ve bezler çevresinde hücreliliği artan içsi hücreli stromadan oluşmaktadır. Bezlerde hafif sitolojik atipi ve sitoplazmik lipofuksin pigmenti saptanabilir. Mitoza rastlanmaz. Stromal hücreler içsi şekillidir ve sıklıkla büyük, düzensiz ve hiperkromatik nükleuslara sahiptir. Seyrek olarak multinükleer dev hücreler ve bez çevresi alanlarda 10 BBA' da bir mitoz görülebilir. Fokal nekroz kitlenin % 5' inden azını oluşturur. Stromal hücreler CD34 ve vimentinle yaygın,  $\alpha$ -SMA ve desminle fokal pozitifdir. Ki-67 indeksi % 5' in altındadır. Bez epiteli ve bazal hücreler CK7, CK8 ve HMW-CK' le pozitif boyanır. Stromal ve glandüler hücrelerin her ikisi de PSA ile boyanmaz (81).

Mikst epitelyal-stromal tümörlerin benign tipleri fibroadenom ve adenomyomu içerir. Bunlar 39-66 yaşlarında, ağrı ve idrar yapma güçlüğü yakınmasıyla başvuran olgulardır. Tümörler makroskobik olarak solid ve kistik, 3-15 cm çapa sahiptir. Spesifiye edilemeyen malign epitelyal-stromal tümörlerden sitolojik atipi içermeyen stroması ve belirsiz mitotik aktivitesine dayanılarak düşük dereceli olarak ayırt edilir(76).

Hematospermi nedeniyle başvurmuş, VS' de sistoureteroskopik olarak bulgusu olmayan, USG' de sağ VS' de büyüme saptanan, patolojik olarak adenomyozis tanısı alan bir olgu bildirilmiştir (86).

Literatürde malign veya olasılıkla malign epitelyal-stromal tümör tanılı dört olgu rapor edilmiştir. Bu kategori mitotik aktivite ve nekroz durumuna göre düşük ve yüksek dereceli olarak ayrılmıştır. Çoğu yaşamın altıncı dekadında ve temelde üriner obstrüksiyonla başvuran olgulardır. Makroskobik olarak multikistik veya solid ve kistiklerdir. Mikroskobik olarak tek katlı küboidal, fokal çok katlıya değişen bir

epitelle döşeli, deforme bezler çevresinde daha belirgin olmak üzere fokal hücre yoğunlaşmaları gösteren az bir stroma içerirler. Bir olguda sistoprostektomiyle kür sağlanmış, iki olguda iki yıl sonra pelvik nüks görülmüştür. Bunlardan birinde ikinci eksizyonla kür sağlanmış, diğeri ise cerrahiyle kür sağlanamaz olarak değerlendirilmiştir. Sistosarkoma fillodes tanılı bir olguda ise cerrahi sonrası dördüncü yılda akciğer metastazı gelişmiştir (84,87,88).

### 3.3.7.3. Mezenkimal Tümörler

Primer olarak VS yerleşimli mezenkimal tümörler seyrekler. Bu tümörler sıklığı çoktan aza doğru olmak üzere leiomyosarkom, leiomyom, anjiosarkom, malign fibröz histiositom, soliter fibröz tümör, liposarkom ve hemanjioperisitomdur (1,76).

Leiomyom asemptomatik ve oldukça seyrekler. Bildirilmiş 10' un altında olgunun çoğu rektal muayeneyle birkaçı da MRG ile saptanmıştır. 5 cm çapa ulaşabilen bu tümörler muhtemelen mülleryen kökenlidir ve lokal eksizyonla çıkarılanlarda nüks bildirilmemiştir (76). Bildirilen az sayıda semptomatik olguda üriner obstrüksiyon bulguları, dizüri, sık idrara çıkma, kolon basısına bağlı rektal tenezm gibi belirtiler bildirilmiştir (89). BT taramasında olası prostat bağlantılı pelvik kitle laparotomide komşu organları tutmayan ve bazen her iki VS' i tutan kitle olarak bildirilmiştir. Cerrahi eksizyon sonrası belirtiler kaybolmuş ve nüks bildirilmemiştir (90,91).

Leiomyosarkom VS'lerde oldukça nadirdir. Pelvik sarkomların en sık yerleşim yeri prostattır. VS'de 14 sarkom olgusu bildirilmiştir ve ileri derecede malign ve kötü prognozludur. En sık başvuru şikayeti mesane çıkış obstrüksiyonu, pelvis ve perine ağrısıdır. Prostatik sarkomdan farklı olarak hematüri genellikle bulunmaz. Tanısında rektal tuşeyle muayene, pelvik USG, BT ve MRG ile prostat ve VS bölgesinde büyük bir kitle saptanabilir. Yapılabilirse radikal prostatektomi ve vezikülektomi tedavi seçeneğidir. Radikal sistoprostektomiyle 13 aylık kür sağlanan bir olguda ise iki yıl sonra böbrek metastazı geliştiği bildirilmektedir. Tedavide orşiektomi veya östrojenlerin yararı savunulmaktadır. Bu tümörler retrovezikal boşluktaki komşu organları yaygın olarak invaze etme eğilimindedir. Cerrahi eksizyonda tümörün kaynağı belirlenemediğinden çok sayıda çevre organın radikal rezeksiyonu gerekir. Makroskobik olarak 15 cm çapa erişebilen, mesane arka ve rektum ön duvarı ve yer yer prostatla yapışıklıklar gösteren sıkı kitle şeklindedir. Aynı taraf üretere bası yaparak dilatasyona yol açabilir. Mikroskobik olarak hiperkromatik elonge

nükleuslu, perinükleer vakuoller bulunduran pembe sitoplazmalı iğsi hücrelerin demetlerinden oluşmuştur. Her BBA' nda 2-3 mitoz içeren alanlar bulunabilir. Fokal hyalinizasyon ve miksoid dejenerasyona rastlanabilir. Tümör hücreleri PAS ve MT'la pozitif boyanır (92,93).

VS' de iskelet kası diferansiyasyonu gösteren çok az sarkom olgusu bildirilmiştir. Literatürde BT ile topografik olarak merkezi sağ VS olan, pelvis ve abdomen yerleşimli, 5 cm çapında, lobüle, heterojen kitle saptanarak transrektal USG eşliğinde biyopsi uygulanan, rutin histokimyasal ve immünohistokimyasal incelemeyle VS' in primer rabdomyosarkomu tanısı verilen birkaç olgu bildirilmektedir. Tümör hücreleri desmin, sarkomerik aktin ve vimentinle güçlü pozitif reaktivite gösterirken düz kas aktiniyle reaktivite göstermemektedir (94,95).

Anjiosarkom klasik cerrahi ve adjuvan terapötik uygulamalara cevapsız, oldukça agresif bir tümördür ve VS' de tümü pelvik ağrıyla başvurmuş, ikisi altı ay sonra uzak metastazlarla ölmüş, bildirilen üç olgu vardır (96).

Primeri kesin olarak belirlenemeyen, VS ve prostatı tutan, prostat karsinomu metastazından ölen bir liposarkom olgusu da bildirilmiştir (76).

Malign fibröz histiositom VS'de oldukça seyrekdir. Kaynaklandığı yerin saptanmasında USG önemlidir. Çoğu olguda radikal prostatektomi ve vezikülektomiyle tam cerrahi tedavi uygulanması önerilmektedir (76).

VS' de tümü sağda yerleşmiş beşten az soliter fibröz tümör olgusu bildirilmiştir. Hastalarda hematüri, dizüri, sık idrara çıkma gibi belirtiler olabilmektedir. CD34 ve vimentinle kuvvetli reaksiyon gösteren, hafif pleomorfik iğsi hücre çoğalmaundan oluşan ve damardan zengin bu tümörlerin çoğu miksoid değişiklikler gösterir. Değişen miktarlarda, kalın, hyalinize, keloid benzeri intersellüler kollajen demetleri içerir. Cerrahi eksizyon sonrası yaklaşık 13 aylık takiplerde nüks bildirilmemiştir (97-99).

VS' de, hipoglisemiyle başvuran bir hemanjioperisitom olgusu da bildirilmiştir. Sistoprostatektomi ve vezikülektomiyle tedavi edilen olgunun 10 yıl sonra yaygın hemanjioperisitomdan öldüğü bildirilmektedir (76).

#### **3.3.7.4. Çeşitli Primer Tümörleri:**

*Schwannom(Nörilemmom):* Schwannom iyi diferansiye schwann hücrelerinden oluşan benign periferik sinir kılıfı tümörüdür. VS' de 3 olgu bildirilmiştir. Genellikle asemptomatik olan tümör hemospermi, irritatif idrar yapma, noktüri ve alt kadran ağrısı gibi şikayetlere yol açabilmektedir. Rektal muayenede kitle palpe edilebilir. Abdominopelvik ya da transrektal USG tanıda ilk yardımcı yöntemlerdir. BT ve MRG ile tümörün yerleşim, boyut ve yayılımı değerlendirilebilir. Kesin tanı histolojiktir. Cerrahi rezeksiyon küratiftir ve nüks bildirilmemiştir (100-102).

*Koryokarsinom:* Testisler dışında çoklu organ tümörü ve VS' de çok büyük depozitler bulunan bir olgu bildirilmektedir (103).

*Olası Mezonefrik Kökenli Adneksiyal Tümör:* VS' de ilk tanısından 23 yıl sonra nüks gösteren, kadın genital yolunda daha önce tanımlanmış mezonefrik (Wolfiyan) kökenli kadın adneksiyal tümörlerine benzetilen olası mezonefrik kökene sahip erkek adneksiyal tümörlü bir olgu bildirilmiştir (76).

*Karsinoid Tümör:* Literatürde VS' de BT ve MRG ile saptanmış bir karsinoid tümör olgusu vardır (104).

*Küçük Yuvarlak Mavi Hücreli Tümör:* Yakın zamanda rapor edilmiş, tanısı doğrulanmamış bir küçük yuvarlak mavi hücreli tümör olgusu da bildirilmiştir (105).

#### **3.3.7.5. Metastatik Tümörleri**

##### **3.3.7.5.1. Prostat Adenokarsinomu**

VS' in prostatik adenokarsinomla tutulumu yaygındır. Klinik olarak prostata sınırlı kanseri olan hastaların radikal prostatektomilerinde yaklaşık % 12 oranında VS tutulumu gözlemlenmektedir. Prostatik adenokarsinomun VS' metastazı, ejakülatör kanal kompleksiyle doğrudan yayılım, prostatik kapsül invazyonu sonrası periprostatik dokunun tutulumuyla VS' e yayılım ve kanserin VS' de izole depozitleri halinde başlıca üç yolla olur (1).

##### **3.3.7.5.2. Ürotelyal Karsinom**

Mesanenin ürotelyal karsinomları doğrudan ve/veya mukozal yayılımla VS' i invaze edebilir. Doğrudan yayılım genellikle trigon ve arka-alt duvar yerleşimli ve patolojik evresi T4 olan kanserlerde görülür. İn situ ürotelyal karsinomun yayılımı, prostatik üretranın, ejakülatör kanalların ve VS' in mukozası boyunca intraepitelyal yerine geçme ve bazal membran boyunca pagetoid yayılım şeklinde olur (1).



### **3.3.7.5.3. Rektal Adenokarsinom**

Rektal adenokarsinom seyrek olarak VS ve prostatı tutabilir ve tanı zorluğuna yol açar. Ayırıcı tanıda İHK oldukça yardımcıdır (1).

### **3.3.7.5.4. Diğer Tümörler**

Diğer organlardan VS' e metastaz sadece otopsi serilerinde rapor edilmiştir. Bununla birlikte son zamanlarda bir cerrahi olguda, retrovezikal boşluğa düşmüş bir VS' de metastatik seminom tanımlanmıştır (106).

### **3.3.8. ONKOGENEZ**

Kanser, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde en önde gelen ölüm nedenleri arasında yer almaktadır. Yalnız Amerika'da yılda yaklaşık 500.000 kişinin kanser tanısı aldığı ve bu hastalığın tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu bilinmektedir (107,108).

Karsinogenez çok faktörlü ve çok basamaklı bir olay olup, normal bir hücrenin kanser hücresine dönüşmesi için çok sayıda genetik değişikliklerin olması gerekmektedir. Bunlar arasında; nokta mutasyonları, translokasyonlar, gen amplifikasyonları, hücresel onkogen aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu gibi mekanizmalar yer alır. Kanser biyolojisinde ölümcül olmayan genetik hasarların birikmesiyle seyreden birçok basamaklılık görülür. Genetik hasarın hedefi olan normal düzenleyici gen aileleri; büyümeyi uyarıcı (protoonkogen), büyümeyi baskılayıcı (antionkogen) ve programlı hücre ölümünü düzenleyici (apoptotik) genlerdir. Bunlara bir de hasarlı DNA onarımını düzenleyen genler eklenecek olursa, bu dört gen ailesi çok basamaklı karsinogenez biyolojisinde suçlanan etkenlerin hedefi olmaktadır (108).

Bu suçlanan etkenler; kimyasal maddeler, ultraviyole ışınım ve mikrobiyolojik ajanlar ana başlıkları altında incelenmektedir (108). Bu mikrobiyolojik etkenlerden, başta virüsler olmak üzere infeksiyöz ajanlar kanserin az bilinen nedenlerinden ve farklı malignitelere katkıda bulunurlar. Bugün için tüm dünyada ortaya çıkan kanserlerin yaklaşık % 20'sinin virüslerle ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Bu kanserlerin bir kısmı belli coğrafyalarda yüksek sıklık gösteren bir endemik özelliğe, geri kalanı ise düşük sıklık gösteren sporadik bir özelliğe sahiptir. Virüs tipi, kanser tipi ve coğrafi özelliklere bağlı olarak, belli bir kanserle belli bir virüs ilişkisinin tutarlılığı % 15-100 gibi geniş bir varyasyon aralığı göstermektedir (109). Virüsler

onkogenezde genellikle kofaktör olarak rol oynar ve hücrenin kanserleşmesinde bazı aşamaların gerçekleşmesine neden olur (109).

Organizmada bulunan hücrelerin morfolojik, biyokimyasal ya da büyüme özelliklerinde izlenen normalden sapmalar “transformasyon” olarak adlandırılır. Transforme hücrelerin deney hayvanlarında tümör oluşturabilme özelliği ya da kanser hücresi şeklinde davranabilmeleri ise “neoplastik transformasyon” adını alır. Neoplastik transformasyon kanser oluşumunda ilk ve en önemli basamak olmasına karşın, transforme hücrelerin tümör dokusuna dönüşmeleri ve kanserin klinik özelliklerinin ortaya çıkması için ek genetik değişiklikler gerekmektedir (107,108).

Transforme hücrelerde sıklıkla izlenen ve onları normal hücrelerden ayıran bazı fenotipik özellikler ortaya çıkar. Bunlar arasında, karakteristik hücre şeklinin kaybı ve yuvarlaklaşma gibi morfolojik değişiklikler, DNA sentezinin artışı, kromozom kırıkları, anormal kromozomlar gibi genetik değişiklikler, yeni antijenlerin ortaya çıkışı gibi özellikler izlenebilir. Bu fenotipik değişiklikler arasında; kontakt inhibisyonun kaybı, tutunma ihtiyacının kaybı, yarı katı agar ortamında koloni oluşturabilme ve büyüme faktörlerine azalmış gereksinim yer alır (107,108).

Normal hücrelerde bölünme, hücrelerin üreme yüzeyinin tamamını kaplaması ve yeni hücrelerin tutunabileceği alanın ortadan kalkması ile durdurulur. Bu özelliğin sağlanmasında hücre yüzeyinde yer alan reseptörlerin birbirini tanıması ve hücre bölünmesini baskılaması etkili olmaktadır. Kontakt inhibisyonu adını alan bu özelliğin transforme hücrelerin çoğunda izlenmediği ve bu hücrelerin üst üste, yoğun hücre odakları oluşturacak şekilde çoğalmayı sürdürdüğü bilinmektedir (107,108).

Fibroblastlar, epitelyal hücreler ya da parankim hücreleri, üremek ve fonksiyonlarını yerine getirebilmek için tutunacak bir yüzeye gereksinim duyarlar. Bu destek, organizmada bazal membran gibi destek yapıları ve çevredeki diğer hücreler, hücre kültürlerinde ise cam ya da plastik yüzeyler tarafından sağlanır. Transforme hücrelerin bir kısmında bölünmek için katı yüzeylere tutunma özelliğinin kaybı ve kültür sıvısında serbest olarak ya da hücre agregatları şeklinde yaşayabilme özelliği izlenir (107).

Tüm hücreler yaşamsal aktiviteleri için değişik düzeylerde iyonlar, vitaminler, hormonlar gibi kendi sentezleyemedikleri maddelere ihtiyaç duyarlar. Transforme hücrelerin organizmada hücre bölünmesinin kontrolünde önemli rolleri olan epidermal büyüme faktörü ya da plateletlerden salgılanan büyüme faktörü gibi faktörlere olan gereksinimleri azalmış ya da kaybolmuştur. Bu hücreler, bu faktörler-

den bağımsız olarak ya da faktörleri kendileri sentezleyerek, organizmanın kontrolünden bağımsız olarak çoğalmaktadır (107,108).

Kanser, temelde hücrelerdeki mutasyonlara bağlı genetik kökenli bir hastalıktır. Hücrenin çoğalması ve çevresi ile iletişimde kullandığı kontrol mekanizmalarındaki genetik bozukluklar hücrenin kanser hücrelerine dönüşümünde etkindir. Organizmada çok sıkı olarak kontrol edilen hücre çoğalmaunda izlenen bozukluklar, kontrolsüz hücre bölünmesi, doku organizasyonunun bozulması ve neoplazi gelişimine neden olur. Buna yol açan mutasyonlar incelendiğinde karşımıza üç hücre gen grubundaki değişiklikler çıkar:

*Protoonkogenler ve onkogenler:* Protoonkogenlerin ürünleri olan proteinler, hücrede sinyal iletimi ve hücre döngüsünün kontrolünde yer alırlar. Bunlardaki mutasyonlarla onkogenler oluşur.

*Antionkogenler:* Bu genler, görevi normal hücre döngüsünün ilerlemesini ve hücre bölünmesini inhibe etmek olan proteinleri kodlayan genlerdir.

*DNA onarım genleri:* DNA replikasyonu esnasında meydana gelen hataların ve genomik DNA'da çeşitli etkenlerle oluşan bozuklukların tamirinde görevli proteinleri kodlarlar. Bu genlerde izlenen mutasyonlar, DNA onarım mekanizmasını bozarak hatalı baz dizilimlerinin ayıklanamamasına ve kanser gelişimine neden olur (107,108).

Normal hücrelerin bölünmeyi artırıcı veya baskılayıcı çeşitli sinyallere cevap vermek için kullandığı metabolik yolları vardır. Organizmada hücre bölünmesinin kontrolünde özelleşmiş hücrelerce sentezlenen büyüme faktörlerinin salgılanmasının önemli rolü vardır. Bu faktörler aynı ya da farklı tür hücrelerde kendilerine ait reseptörlere bağlanarak etkilerini oluştururlar. Bu bağlanma reseptör moleküllerinde çeşitli değişikliklerin uyarılması ve tirozin kinazlar veya G proteinleri gibi efektör moleküllerin yer aldığı bir sinyal iletim zincirinin başlatılmasına neden olur. Bu sinyal iletim sisteminde birçok protein görev alır. Lipidler ve döngüsel nükleotidler gibi ikincil mesajcı moleküller dışında plazma membranı veya endoplazmik retikulumda iyon geçirgenliğini değiştiren moleküller de sinyal iletiminde rol oynar. Dışarıdan gelen büyümenin kontrolüyle ilgili sinyaller, hücre metabolizması, morfolojisi veya adhezyon özelliklerini değiştirmek üzere sitoplazmik hedeflere etkili olabilir. Ancak birçok sinyalin veya ikincil mesajcı molekülün asıl hedefi transkripsiyon aktivatör ya da baskılayıcılarının etkilenmesiyle bazı genlerin ekspresyonları üzerindedir. Bu genlerin ürünleri, organizmanın fizyolojik durumuna uygun olarak hücrede

bölünmenin başlatılması, büyümenin durdurulması, farklılaşmanın sürmesi, apoptozun indüklenmesi gibi görevler alırlar. Bu sinyal iletim sisteminde oluşan bozukluklar, büyüme kontrolünün kaybına ve kanser gelişimine neden olabilmektedir (108).

Hücrelerde bölünme, hücre içi ve dışı sinyallerin etkisiyle belirli bir zamanlama ve plan içinde gerçekleşmektedir. Bölünme ve öncesindeki aşamaları kapsayan hücre döngüsü, bölünmenin başlamasından önce tamamlanması gereken çeşitli görevlerin kontrolüne imkan sağlar. Hücre döngüsünün kontrolünde siklinler ve siklin bağımlı kinazlar (CDK) rol alır. Siklin ve CDK, hücre döngüsünün aşamasına uygun olarak bir sonraki döneme geçilmesini ya da uygun hale gelene kadar baskılanmasını sağlarlar. Hücre döngüsünün kontrolünde etkin olan bu sistemde izlenecek bozukluklar da büyüme kontrolünün kaybına ve kanser gelişimine neden olabilmektedir (107).

#### **3.3.8.1. Virüsler ve Onkogenez**

Onkojenik virüsler yaklaşık 100 yıl önce keşfedilmiş, kanatlılarda ve farelerde izlenen bazı tümörlerin virüs nedenli olduğu saptanmıştır. Daha sonra bu virüslerin retrovirüs ailesinden olduğu anlaşılmış ve viral enfeksiyonla tümör gelişimi ile ilgili çeşitli özellikler gözlemlenmiştir. Onkojenik retrovirüslerin incelenmesiyle viral onkogenler tanımlanmış ve bu genlerin virüslere ait transformasyon oluşturan genler olduğu düşünülmüştür. Hücrede bu genlerin homologlarının saptanması ve fonksiyonlarının açıklanması ile, hücre çoğalmasının kontrolü ile ilgili birçok protein ve mekanizma aydınlatılmıştır (107).

Virüsler tarafından oluşturulan transformasyon, hücrenin viral genler tarafından kontrolü sonunda ortaya çıkan ve hücrenin biyolojik fonksiyonlarında değişikliklere neden olan bir süreçtir. Burada en sık rastlanan mekanizma viral genomun hücre kromozomuna entegrasyonudur. Viral genomda, transformasyon ve tümör oluşumuna neden olan genlere viral onkogen (v-onc) denir. Viral onkogenler ilk kez retrovirüslerde saptanmıştır. Ancak bu onkogenlerin homolog kopyaları tüm normal hücrelerde de (protoonkogen, c-onc) bulunmuş ve hücre büyüme ve gelişiminde rolü olan bu genlerin eksprese edilmediği ya da düşük düzeylerde eksprese edildiği belirlenmiştir. Hücresel onkogenler kendilerinin karşılığı olan viral onkogenlerden farklıdır. Bunun nedeni, virüsün hücreden aldığı bir onkogeni mutasyonlar sonucu değişime uğratmasıdır. Çoğu v-onc' ta hücresel ve viral diziler birleşmiştir ve üretilen protein viral dizilerden de kodlanan bir füzyon proteindir. Virüsler, ya kendileri

bir onkogen taşımak ya da hücrel bir onkogeni aktive etmek suretiyle onkogeneze rol almaktadırlar (107,108).

Farklı virüs ailelerinden birçok virüs, kanser oluşumu ile ilişkilendirilmektedir. Bunların hayvanlarda izlenen bazı kanserleri oluşturduğu bilinmesine karşın, insan tümörlerindeki rolleri aydınlatılamamıştır. Günümüzde epidemiyolojik ve moleküler veriler Epstein-Barr Virüsü (EBV), Hepatit B Virüsü, Hepatit C Virüsü, Human Papilloma Virüsü (HPV), Human Herpes Virüsü-8 (HHV8) ve Human T-hücre Lenfotropik Virüsleri'nin insanda izlenen tümörlerle ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bu virüslerin kanser oluşumuna neden olan moleküler mekanizmaları dolaylı ve karmaşıktır. Bunların dışında Adenovirüsler, Parvovirüs B19, Human Sitomegalovirüsü (CMV) ve Herpes Simpleks Virüsleri'nin (HSV) onkojenik potansiyeli ile ilgili çalışmalar sürmektedir (107).

Birçok farklı virüs ailesinde incelenen bu virüsler, yapısal özellikleri ve konakla ilişkileri birbirinden farklı olmasına karşın benzer özellikler de taşımaktadırlar. Onkojenik potansiyele sahip tüm virüslerin konak hücreleri arasında hızlı çoğalan hücreler bulunmakta, virüsün ürettiği proteinler hücre döngüsünü, hücre içi sinyal yollarını ve apoptozu etkilemektedir. Bazı virüslerin infekte olmayan hücrelerin çoğalmaunu artıracak faktörler üretmeleri ya da infekte hücrelerin immün sistem tarafından temizlenmesini önlemesi de onkojenik potansiyele katkıda bulunmaktadır (107).

Virüslerle transforme hücrelerde viral nükleik asitlerin bir kısmı ve bazı viral genlerin sürekli olarak eksprese edildiği çoğu kez saptanmaktadır. Transforme hücrelerde tüm virüs partikülü oluşumu ise çoğunlukla meydana gelmemektedir (108).

Onkojenik virüsler RNA veya DNA genomu taşıyabilirler ancak HCV dışındaki tüm onkojenik RNA virüslerinin replikasyonunda bir DNA basamağı izlenmektedir. DNA tümör virüslerinin iki tip replikasyon stratejisi vardır. Hızlı çoğalan hücrelerde viral genomun tümü eksprese edilir ve virüs replikasyonu gerçekleşir. Bu süreç konak hücrenin ölümüyle sonuçlanır. Stabil hücrelerde ise, viral DNA konak hücre kromozomuna entegre olur, viral genomun sadece bir kısmı eksprese edilir. Bu bölgeler virüsün erken proteinlerini kodlayan bölgelerdir (107,108).

RNA tümör virüsleri (Retrovirüsler) ise taşıdıkları nükleik asit tipi ile DNA tümör virüslerinden ayrılırlar ancak genomlarını onlar gibi hücre kromozomuna entegre ederler. Retrovirüsler, RNA'ya bağımlı DNA polimeraz (revers transkriptaz)

enzimi içerirler ve bu enzim sayesinde kendi RNA'larını DNA'ya çevirerek hücre kromozomuna entegre olurlar (108).

### 3.3.8.2. Viral Transformasyon Mekanizmaları

1- *Hücrel transformasyona neden olan genlerin aktivasyonu:* Virüs DNA'sının hücre kromozomuna inersiyon ya da integrasyonu ile katılma bölgesindeki hücrel bir genin yapısal veya fonksiyonel özelliğini bozabilir. Farklı mekanizmalarla hücrel sinyal moleküllerinin homologları üretilerek hücre çoğalmaunun kontrolü bozular (107,108).

2- *Hücre sinyal iletimi proteinlerinin aktivitelerinin değiştirilmesi:* Bu yolda, inersiyonel aktivasyon, sinyal iletimini etkileyen viral proteinlerin üretimi, plazma membran reseptörlerinin uyarılması ve fosfatazların inhibisyonu gibi mekanizmalara rastlanır.

İnersiyonel aktivasyonda hem Retrovirüslerde izlenen integras enzimi gibi viral enzimler hem de hücrel rekombinasyon enzimleri rol oynayabilmektedir. Yabancı bir genin kromozoma integrasyonu genin yapısal kısımlarının ya da kontrol bölgelerinin bütünlüğünü bozarak hücrel genin inaktivasyonuna neden olabilir. Bunun tam tersi olarak normalde ekspresyonu fizyolojik kontrol altında olması gereken genler, yakınlarına integre olan bir kontrol dizisinin etkisi ile aktive olabilmekler(108).

Viral DNA'nın kromozoma integrasyonu onkojenik DNA virüslerinin replikasyonunda gerekli bir aşama değildir. Ancak Polyomavirüsler ve Adenovirüslerle transforme hücrelerde izlenmektedir. Viral DNA transforme hücrelerde sabit, kromozom dışı bir epizom olarak da bulunabilmektedir. EBV ile immortalize olmuş B lenfositlerinde izlenen bir özelliktir (108).

Bazı virüslerin oluşturduğu transformasyonda, hücrel proteinlere belirgin bir benzerliği olmayan viral proteinlerin çeşitli hücrel sinyal iletimi sistemlerini etkilemesi rol oynamaktadır. Polyomavirüs ve Herpes virüs ailesinden bazı virüslerin Src ailesinden tirozin kinazlara bağlanarak hücredeki sinyal iletimi yollarını kalıcı olarak aktive ettikleri saptanmıştır(107,108).

Birçok hücrel kontrol mekanizması, çeşitli faktörlerin hücre membranında yer alan reseptörlere bağlanması sonucu tetiklenen tirozin kinazlar ile yönetilmektedir. Ligandları ile birleşmiş reseptörler hücre içerisinde kısa bir süre sinyal oluştur-

duktan sonra parçalanarak inaktive edilirler. Bazı virüsler, özel proteinleri ile reseptörleri ligandlarından bağımsız olarak uyarabilmektedir (108).

Fosfataz enzimleri, kinazların oluşturduğu fosforilasyonla iletilen sinyalin sonlandırılmasında rol alırlar. Polyomavirüslerce sentezlenen küçük T antijeni (tAg), hücre protein Fosfataz 2A'yı inhibe ederek sinyalin sürekliliğine neden olmaktadır (107,108,110).

*3- Hücre döngüsü kontrolünün bozulması:* Birçok sinyal iletim mekanizmasının son hedefi, hücre döngüsünü kontrol eden proteinleri kodlayan genler ve bunların ekspresyonudur. Bu hedefler içinde Rb proteininin fonksiyonlarının baskılanması, Rb benzeri proteinlerin baskılanması, virüse özgü siklinlerin üretilmesi, Sikline Bağımlı Kinaz (CDK) inhibitörlerinin aktivasyonu ve p53 fonksiyonlarının baskılanması yer alır. Bu genlerin ya da ürünü olan proteinlerin viral faktörlerle aktivasyonu, artmış veya uygunsuz hücre çoğalmauna ve transformasyona neden olmaktadır (107,108,110).

Rb proteini hücrede transkripsiyon baskılayıcı olarak görev alır. Fosforile edilen Rb, normalde bağlı olarak bulunduğu E2F faktörüne olan afinitesini yitirir, serbest kalan E2F ise DNA sentezi ile ilgili belirli genlerin promoterlerine bağlanarak onları aktive eder. Hücrelerin G1 döneminden S dönemine geçmesinde CDK'larca oluşturulan Rb fosforilasyonunun rolü vardır. Rb proteininin ayrıca S döneminde DNA sentezinin kontrolünde ve hücre döngüsünün ilerleyen aşamalarında da görevi vardır. Adenovirüslerin E1A proteini, BK virüs (BKV) ve SV40'ın büyük T antijeni (TAg), HPV tip 16 ve 18'in E7 proteinlerinin Rb proteinine bağlandığı bilinmektedir. Bu bağlanma, Rb-E2F bağlantısını bozmakta, CDK fosforilasyonu sonucu olduğu şekilde serbest kalan E2F, S dönemi proteinlerinin sentezini uyarmaktadır. Neticede hücre uygunsuz olarak S dönemine girmekte ve çoğalma indüklenmektedir (107,108).

E1A, TAg ve E7 proteinleri, Rb proteinine bağlandığı gibi p107 ve p130 hücre proteinlerine de bağlanmaktadır. P107, G1, S ve G2 dönemi ile ilgili transkripsiyon reseptörlerini bağlamakta, p130 ise bölünmesini durdurmuş hücrelerin G0 döneminde kalmasında rol oynamaktadır. Viral proteinler bu faktörleri etkileyip farklılaşmış hücrelerin yeniden mitozaya girmesine neden olmaktadır (107,108).

Virüslerin hücresel transformasyonda kullandıkları bazı mekanizmalar ve sorumlu proteinleri tablo 3' te özetlenmiştir.

**Tablo 3:** Virüslerin hücresel transformasyonda kullandıkları bazı mekanizmalar ve sorumlu proteinleri (108):

---

***1-Hücre sinyal moleküllerinin benzerlerinin üretilmesi***

- Transdüksiyon yapan Retrovirüsler→ viral onkogenler
- Human Herpes Virüs 8→ V-gpç
- Poksvirüsler→ viral büyüme faktörü

***2-İnzersiyonel aktivasyon***

- Kronik transformasyon yapan Retrovirüsler→kromozoma integrasyon

***3-Sinyal iletimini etkileyen viral proteinlerin üretimi***

- Epstein-Barr Virüsü→ LMP-1, EBNA-2A, LMP-2A

***4-Plazma membran reseptörlerinin uyarılması***

- Human Papilloma Virüsü tip 16→ E5 proteinleri

***5-Fosfatazların inhibisyonu***

- Simian Virüs 40→ küçük T antijeni

***6-Rb proteininin fonksiyonlarının baskılanması***

- Adenovirüsler→ E1A proteini
- Simian Virüs 40→ büyük T antijeni
- Human Papilloma Virüsü tip 16 ve 18→ E7 proteinleri

***7-Rb benzeri proteinlerin baskılanması***

- Adenovirüsler→ E1A proteini
- Simian Virüs 40→ büyük T antijeni
- Human Papilloma Virüsü tip 16 ve 18→ E7 proteinleri

***8-Virüse özgü siklinlerin üretilmesi***

- Human Herpes Virüs 8→ V-siklin

***9-CDK inhibitörlerinin aktivasyonu***

- Human Papilloma Virüsü tip 16 ve 18→ E7 proteinleri

***10-P53 fonksiyonlarının baskılanması***

- Human Papilloma Virüsü tip 16 ve 18E→ 6 proteinleri
- Adenovirüsler→ E1B proteini, E4
- Simian Virüs 40→ büyük T antijeni

---

**LMP:** Latent membran proteini, **EBNA:** Epstein-Barr virüs nükleer antijeni



HHV8' de bulunan v-siklin geni hücreyel siklin D2 genine % 58 benzerlik göstermekte ve siklin D2 ligandlarını bağlamaktadır. V-siklinin, inhibitör proteinlerin hücreleri G1'de tutma etkisini ortadan kaldıradığı ve G0'daki hücreleri bölünmeye sevkdebileceği saptanmıştır (107,108,110).

Onkojenik papillomavirüslerin E7 proteini, siklin-CDK kompleksini inhibe eden p21 proteinine bağlanarak fonksiyonlarını baskılamaktadır. Böylece E7 proteini hem Rb hem de p21 inaktivasyonu ile hücreleri, viral proteinlerin sentezlendiği dönem olan S dönemine sokmaktadır (107,108,110).

Transkripsiyonel regülatör özellikli bir protein olan p53, hücredeki önemli tümör baskılayıcı proteinlerden birisidir. İnsan kanserlerinde mutasyona uğradığı en sık saptanan protein p53 olmaktadır. Hücrenin DNA'sında ultraviyole ışınım hasarı, radyasyon etkisi ile oluşan kromozom kırıkları ya da DNA tamiri ara ürünleri, hücrede p53 düzeyinin artmasına neden olur. P53'ün en önemli fonksiyonu, hücrede DNA hasarı oluştuğunda, diğer düzenleyici proteinlerle birlikte hücre bölünmesini G1-S sınırında durdurmak veya hücreyi apoptoza götürmektir. BKV ve SV40 TAg' i, p53'e bağlanarak stabilize eder ve fonksiyonlarını engeller. Adenoviral E1B proteini p53'ün apoptozla ilgili genleri aktive etmesini engeller. HPV tip16 ve 18'in sentezlediği E6 proteini p53'e ve hücreyel ubiquitin ligaza bağlanarak p53'ün proteozomlarca parçalanmasına neden olur.

### **3.3.8.3. Onkojenik DNA Virüsleri**

#### **3.3.8.3.1. Epstein-Barr Virüsü (EBV)**

Epstein-Barr virüs insan herpes virüslerinin gamma herpes virüs alt ailesine dahil bir DNA virüsüdür. 172 kbç uzunluğunda lineer çift zincirli bir DNA' ya sahiptir. Kendi kendini sınırlayan, benign lenfoproliferatif bir hastalık olan İnfeksiyöz Mononükleoz (İM) neden olur. Hücreyel bağışıklık yanıtının baskılandığı durumlarda çeşitli Lenfoproliferatif Hastalıklara (LPH) yol açabilir. Konjenital T lenfosit bozukluğu olanlarda X' e bağlı geçen lenfoproliferatif hastalığa neden olabilir. Bunlar dışında ve daha önemli olarak Burkitt Lenfoma (BL), Hodgkin Lenfoma (HL) ve Nazofarinks Karsinomu (NFK) etyolojisinde belirgin bir rol oynadığı savunulmaktadır (108,116-118).

EBV, insanlara yakın temasla, bardak, diş fırçası ve havlu gibi eşyaların ortak kullanımı, sıklıkla da öpüşme sonucu tükürkle bulaşabilmektedir. EBV' nin doku tropizmi kısıtlıdır. B lenfositlerde de bulunan komplemanın C3d reseptörlerine ve

nazofarinks, orofarinks epitel hücreleri ile B lenfositlerde bulunan CR2'ye (CD21) bağlanabilen bir zarf glikoproteinine sahiptir. Lenfositlerde replikasyonunu tamamlamadan latent forma geçer. EBV ile infekte hücrelerde immortalizasyon oldukça yüksektir. Viral DNA' nın büyük bir kısmı immortalize hücreler içinde uç uca eklenmiş halkasal epizomlar halinde bulunur. İmmortalize hücrelerden altı farklı EBV Nükleer Antijeni (EBNA)ve iki adet Latent Membran Proteini (LMP) ve EBV' nin kodladığı küçük RNA' nın (EBERs) içinde yer aldığı en az 11 viral genom ürünü eksprese edilmektedir (107,108,112). Hücre çeşitli indükleyicilerle uyarıldığında, latentlik sona erip, EBV genomu aktive olarak replikasyona başlayabilir (112,116-118).

EBV antijenleri, viral replikasyon döngüsünün hangi döneminde eksprese edildikleri temel alınarak üç grupta toplanır. Erken Antijenler (EA) yapısal olmayan proteinlerdir ve viral replikasyondan bağımsızdır. Bu proteinlerin sentezi produktif viral replikasyonun başladığını gösterir. EA' nın sitoplazmada sınırlı EA-R ve hem çekirdek hem sitoplazmada yaygın EA-D olmak üzere iki tipi vardır (112).

İkinci gruba giren latent faz antijenleri ise EBV genomu bulunan bütün hücrelerden eksprese edilir. Bunlar EBV nükleer antijenleri (EBNA-1,6) ve latent membran proteinleridir (LMP1ve LMP2). Birkaç tane EBNA bölgesi vardır. Ancak transformasyonun başlaması için EBNA-2 gereklidir. Bu antijenler arasında yalnız EBNA-1 sürekli olarak eksprese edilir (112,116-118). EBNA-1, EBV DNA replikasyonunda rol oynar. EBNA-2 ve LMP-1, B hücrelerinin aktivasyon ve çoğalmasında etkilidir. LMP-1' in, normal B hücresi yanıtındaki CD40 gibi davranıp Tümör Nekrotizan Faktör Reseptörü İlişkili Faktörlere (TRAFs) bağlanarak B hücre aktivasyonundaki sinyal yollarını etkilediği düşünülmektedir. EBNA-2 ise siklin D' yi içeren ve hücre döngüsünün ilerlemesini düzenleyen çok sayıda konak hücre geninin transkripsiyonunu uyarır (108).

Üçüncü grupta yer alan geç antijenler ise Viral Kapsit Antijeni (VCA) ve Membran Antijeni (MA)' dir. MA' ya karşı oluşan antikorlar virüsü nötralize etmektedir. Bu antijenler produktif viral replikasyonun sürdüğü hücrelerde bol miktarda üretilir (108,112).

Küçük bir grup B hücresinde latent kalan EBV' nin eksprese ettiği genler EBNA-1 ve LMP-2 ile sınırlıdır. Bu gruptaki hücrelerde bir şekilde EBV ekspresyonunun reaktive olması, EBNA-2 ve LMP-1 gibi latensiyle ilişkili diğer genleri de uyarmakta, hücrelerin çoğalmasına yol açmaktadır. Özellikle de kazanılmış hücresel

bağışıklık bozukluğu olan konaklarda bu çoğalma, bir örneği BL olan EBV ilişkili lenfomalara kadar uzanan, çok basamaklı onkogenetik bir sürece ilerleyebilmektedir (108). İlişkili olduğu tümörlerdeki EBV gen ekspresyonları tablo 4' te özetlenmiştir.

**Tablo 4:** Bazı tümörlerdeki EBV Antijen ekspresyonları (116-118):

	<b>EBNA-1</b>	<b>EBNA-2</b>	<b>LMP-1</b>	<b>LMP-2</b>
<b>BL</b>	+	-	-	-
<b>HL</b>	+	-	+	+
<b>NFK</b>	+	+/_	+	+
<b>LPH</b>	+	+/_	+/_	+

**EBNA:** Epstein-Barr virüs nükleer antijeni, **LMP:** Latent membran proteini, **BL:** Burkitt lenfoma, **HL:** Hodgkin lenfoma, **NFK:** Nazofarinks karsinomu, **LPH:** Lenfoproliferatif hastalık

EBV genomu içeren B lenfositleri transforme olmakta veya immortalize olmaktadır. İmmortalize hücrelerdeki EBV genomu çoğu kez epizomal, çift zincirli ve sirküler durumdadır. Buna rağmen bazıları hücre genomuna entegre olabilmekte ve bu şekilde B hücre mitogenizasyon süreci başlatılmış olmaktadır (108,112).

*İnfeksiyöz Mononükleoz (İM):* Genellikle ateş, yaygın lenfadenopati, hepatosplenomegali, boğaz ağrısı ve kanda atipik aktif T lenfositlerinin belirmesiyle karakterize bir tablodur. Bunu lenfoid doku ve B lenfositlerin enfeksiyonu izler. Bu nonspesifik aktivasyon sonucu heterofil antikorlar oluşur.

Histopatolojik olarak lenf düğümlerinde en çarpıcı değişiklik T hücresi aktivasyonuna bağlı parakortikal bölgede genişlemedir. Seyrek olarak EBV ile enfekte hücrelerde Reed-Sternberg hücrelerini andıran hücreler bulunabilir. Foliküller hafif derecede hiperplazik olabilir. Benzer değişiklikler tonsil ve orofarinks lenfoid dokusunda da yaygın olarak meydana gelebilir (108,112).

T hücre aktivasyonu, hastalık sırasında görülen mononükleer hücre artışının ve atipik lenfositlerin (Downey hücreleri) oluşmasına yol açar. Bazı hastalarda çok az sayıda anormal lenfosit görülürken bir kısım hastada bu lenfositlerin oranı % 90' a çıkabilir. Bu atipik lenfositlere Downey hücreleri de denir. Bu atipik lenfositler olgun lenfositlerden daha büyük modifiye sitotoksik T hücreleridir. Nükleusları büyük ve lobüler, sitoplazmaları ise çoğu kez vakuollü ve bazofiliktir Hücre sel bağışıklığı yeterli olanlarda enfeksiyon kontrol altına alınır. Virüs B lenfositlerinde latent forma geçer ve konağın hayatı boyunca taşınır (108,112).

*Burkitt lenfoma (BL)*: İnsanlarda, etyolojisi bir virüsle ilişkilendirilen ilk tümördür. Sıtmanın endemik olduğu olduğu bölgelerde sık görülmektedir. Sıtma enfeksiyonunun EBV infekte hücrelere karşı T hücre yanıtını baskıladığı ileri sürülmektedir. Endemik olduğu Doğu Afrika BL olgularının % 90-95' inde EBV DNA genomu gösterilmiştir. Endemik bölge dışındaki BL olgularında bu oran % 20' dir. Sporadik veya endemik tüm BL olgularında immünoglobulin hafif ve ağır zincirini kontrol altında tutan c-myc onkojeninde yerleşen kromozomal bir translokasyon vardır ve bu hücrelerde c-myc deregüle olur. Olguların yaklaşık %75' inde 8. kromozomun uzun koluyla, 14. kromozomun uzun kolu arasında resiprokal translokasyon vardır. Bu translokasyonlarda EBV' nin kofaktör olarak rol oynadığı düşünülmektedir. BL' da eksprese edilen tek EBV proteini olan EBNA-1 sitotoksik T hücrelerince tanınmaz. Bunun yanı sıra EBNA-1 spesifik olarak c-myc gen ekspresyonunu da artırabilir (108,109,116-118).

*Nazofarinks Karsinomu (NFK)*: Güneydoğu Asya'da özellikle Çin' de sık olan epitelyal hücreli anaplastik NFK' da EBV ile birliktelik sıktır. Kötü diferansiye NFK olgularının hemen tamamında EBV DNA saptanmaktadır. E/K oranı 2/1 dir. Tümör hücreleri az diferansiye olmuştur, hızla ilerler ve lenfositleri atake eder. Genetik ve çevresel faktörler de gelişmesinde etkilidir. Anti VCA IgA pozitifliğinin NFK ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. NFK' da yüksek titrede EA-D antikoruna saptanır (109,110,116-118).

*Hodgkin Lenfoma (HL)*: Germinal merkez B hücre kökenli Red-Sternberg (RS) hücrelerinin tümörün % 1' ini oluşturduğu B lenfoproliferatif bir tümördür. RS hücreleri belirgin nükleollü, heterokromatik marjinli, multinükleer dev hücrelerdir. Hodgkin hastalarında % 20-40 oranında EBV DNA ve EBNA-1 varlığının saptanması patogeneizde EBV' nin rolü olabileceğini göstermektedir. HL alttipine göre EBV DNA saptanma oranı da değişiklikler göstermekte, lenfositten fakir tipte % 100, mikst tipte %70 ve nodüler sklerozan tipte % 20 oranında EBV saptanmaktadır (108-112,116-118).

*EBV'nin ilişkilendirildiği diğer tümörler* Periferik T hücreli lenfomalar da bazen EBV ile beraberdir. Pirimitif farinks kökenli timus ve parotis karsinomlarında da EBV DNA ve EBNA saptanmıştır. Ayrıca özellikle Japonya' da indiferansiye mide karsinomu olgularının çoğunda EBV ile birliktelik saptanmaktadır (116-118).

EBV, hücresele bağışıklık yanıtının normal olmadığı kişilerde çeşitli lenfoproliferatif hastalıklara yol açabilir. EBV, konjenital T lenfosit bozukluğu olan-

larda X' e bağılı geçen lenfoproliferatif hastalığa neden olur. Transplant hastaları primer infeksiyondan veya latent virüsün reaktivasyonundan sonra transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalık için risk altındadır. AIDS'li hastalarda ve transplantasyon yapılanlarda görülen fırsatçı bir EBV infeksiyonu ise dilde siğıil benzeri lezyonlarla karakterize Hairy oral lökoplakidir (112).

### **3.3.8.3.2. Human Polyoma Virüsler**

Küçük, zarfsız, ikozahedral kapsitli, çift sarmallı çembersel DNA içeren Polyomavirüs ailesinin BK Virüs (BKV), Simian Virüs40 (SV40)ve JC Virüs (JCV) olarak bilinen üç üyesi vardır. BKV SV40 ve JCV arasında % 70-80 DNA homolojisi olduğu gözlemlenmiştir. Toplumun % 75-80' i, ilk iki dekatta geçirilen subklinik infeksiyon sonrası BKV ve JCV ile infektidir. Primer infeksiyon sonrası lenfositlerde, üriner sistemde ve başlıca böbreklerde latent kalmakta, konağın bağışıklığının baskılandığı çeşitli durumlarda reaktive olmaktadır. Yakın temasla bulaşmasına karşın kesin bulaşma yolu belli değildir. Primer infeksiyon çoğunlukla çoçukluk çağında geçirilir. BKV ve JCV böbreklerde subklinik persistan infeksiyona yol açar. BKV' ün belirgin ürotelyotropik doğası, onun idrar yollarını ve böbrekte toplayıcı kanalların döşeyici epitelini, renal kalikslerin ve renal pelvisin değişici epitelini, Bowman kapsülünün parietal epitelini karakteristik olarak infekte etmesine yol açar. Sonuçta esas olarak böbreklerde latent olarak kalmakta ve giderek yaygınlaşan böbrek nakillerinde en önemli sorun kaynağı haline gelmektedir (109-111,122-126).

SV40 ise maymun sarkom virüsüdür. 1955-1963 yılları arasında SV40' la kontamine polio aşlarının dağıtılmasıyla milyonlarca insan infekte edilmiştir. İnsanlarda bazı beyin ve kemik malignitelerinde ve asbestoz varlığında malign mezotelyoma gelişiminde etken veya kofaktör olarak suçlanmaktadır. Son yıllarda Non Hodgkin Lenfomalarında (NHL), tümör dokusunda % 40' a varan oranlarda SV40 TAg ya da viral DNA saptanmasıyla NHL ile bağlantısı da araştırılmaktadır.SV40, ayrıca ependimoma, tiroid ve parotis bezi tümörleri gibi çeşitli insan tümörlerinde, PZR' la değişik oranlarda pozitif bulunmuştur. SV40, özellikle konak immünitesinin baskılandığı durumlarda BKV' le birlikte böbrek ve beyin biyopsilerinde saptanmaktadır (109-111,122-126).

Polyoma virüsler kendilerinin gereksinim duyduğu replikasyon proteinlerini kodlayamazlar. Bu nedenle konak hücrelerini S fazına yönlendirerek transforme edici etkilerinden sorumlu, viral genomun erken bölgelerinden kodlanan iki viral

onkoprotein olan büyük T (TAg) ve küçük t (tAg) antijenlerini sentezlettirirler. TAg, BKV ve SV40' ta benzer olup p53 ve pRb antionkogen ailesinden p105, RB1, p107, Pp130 ve RB2 ile bağlanıp onları bloke etme yeteneğindedir. Ayrıca hücre içi sinyal iletim moleküllerini değiştirerek konak hücrelerinde transformasyona yol açmaktadır. Diğer viral protein tAg, daha çok TAg' a yardımcı sınırlı etkiler göstermekte, transforme hücrelerde fosfataz2A proteininin inhibisyonu ile mitojen bir etki göstermektedir. BKV ve SV40, bu viral onkoproteinler aracılığıyla konak hücrelerinde kromozomal aberasyonları ve mutasyonları indükleyerek önemli bir onkogenetik etki ortaya koyar (108-111,122-126).

### **3.3.8.3.3. Herpes Simpleks Virüs (HSV)**

Herpes virüs ailesinin alfa herpes virüs alt ailesi içinde yer alan Herpes Simpleks Virüsü' nün HSV-1 ve HSV-2 olmak üzere iki farklı tipi vardır. DNA homolojisi, antijenik yapı, doku tropizmi ve benzer primer ve sekonder infeksiyon belirtileri gibi birçok özellikleri ortaktır. HSV hızlı çoğalır ve oldukça sitolitikdir. HSV büyük ve zarflı bir virüstür. Çift zincir DNA genomuna sahiptir ve yaklaşık 70 polipeptidi kodlar. Bu proteinlerin çoğunun replikasyon ve latensideki fonksiyonu bilinmemektedir (108,112).

Her ikisi de orofarinks ve genital bölgedeki giriş yerlerinde deri ve müköz membranlarda replike olarak primer ve latent infeksiyona neden olurlar. Orofaringeal HSV-1 infeksiyonları trigeminal ganglionlarda latent infeksiyona neden olurken, genital HSV-2 infeksiyonları sakral ganglionlarda latent olarak kalırlar. Primer HSV infeksiyonları genellikle ağır seyretmez, bir kısmı asemptomatiktir. Sistemik infeksiyon gelişimi çok nadirdir (112).

Herpes virüsler zarf glikoproteinleriyle konak hücre zarında bulunan özgül hücre reseptörlerine (heparan sülfat ve glikozaminoglikanlar) tutunarak, füzyon ile hücre içine girer. Virüsle konak hücrenin füzyonu sonucu viryondan viral-host-shut off (VHS),  $\alpha$ -trans-inducing factor ( $\alpha$ -TIF) ve fosfoprotein adı verilen proteinlerin salınmasına yol açar. VHS konak hücrenin mRNA'sını bloke ederek hücrenin protein sentezini durdurur.  $\alpha$ -TIF ve fosfoprotein ise hücre çekirdeğine taşınır. DNA kapsitten kurtulur ve çekirdek zarının porlarından geçerek fosfoprotein yardımıyla hemen halkasal forma dönüşür. İnfeksiyondan kısa süre sonra çok erken genler transkripte edilir. Çok erken genler hücresel RNA polimeraz aracılığı ile transkripte edilir. Transkripsiyon Alfa-TIF tarafından indüklenir. Sitoplazmada translasyona

uğrayan proteinler hücre çekirdeğine taşınır. Bu genler kendilerinin ve erken genlerin sentezini düzenleyen proteinleri kodlar. Bunlar erken gen grubunun transkripsiyonuna sebep olur. Bu proteinler de genom replikasyonunu destekler. Viral DNA dönen halka mekanizmasıyla replike olur ve yapısal proteinler olan geç proteinler sentezlenir. Kapsit proteinleri tarafından boş kapsit oluşturulur ve yeni sentezlenen virüs DNA'ları bu kapsitlerin içine yerleşir. Sonuçta virüs çekirdek zarından tomurcuklanarak zarf yapısını da kazanmış olur (112).

HSV sitolitik enfeksiyona neden olur. HSV-1 ve HSV-2 deri ve mukozalarda benzer görünümlü lezyonlara sebep olur. Her ikisi de veziküler lezyonlara yol açar ve virüs genellikle veziküllerden izole edilebilir. Patolojik değişiklikler inflamatuvar yanıtla birlikte infekte hücrelerin nekrozuna bağlıdır. İnfekte hücrelerde balonlaşma, büyük ve koyu pembe Cowdry Tip A intranükleer inklüzyon cisimciklerinin oluşması, konak hücre nükleer kromatinin marjinalasyonu ve multinükleer dev hücrelerin oluşması karakteristik histopatolojik değişikliklerdir (108,112). Nötralizan antikörlara rağmen olabilen hücre füzyonu, HSV'nin hücreden hücreye yayılara dev hücre ve sinsitya oluşumundan sorumlu olan en etkili özelliktir (112).

Sitolojik tanıda Tzanck testi yapılır. Vezikül tabanından hazırlanan preparatlar Giemsa veya Wright boyasıyla boyandığında HSV için karakteristik olan intranükleer Cowdry A inklüzyon cisimcikleri, multinükleer dev hücre ve sinsitya oluşumu görülür. Kesin tanı yöntemi virüsün izolasyonudur. Ayrıca moleküler yöntemlerle virüs saptanabilir (112).

### **3.3.9. Moleküler Tanıda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

Moleküler tanı yöntemlerinin temelini nükleik asit kimyası ve yapısal özelliklerinin tespitine yönelik çalışmalar oluşturmuştur. DNA ilk olarak 1870 yılında Tubingen'de kimya öğrencisi Friederich Miescher tarafından tanımlanmıştır. ABD'den J.D. Watson ile İngiliz Francis H.C.Crick (1953) DNA'nın çift sarmallı heliks yapısını ve komplementer özelliğini keşfetmişlerdir. Böylece nükleik asitlerin kimyası ve yapı elemanları hakkındaki çalışmalar yoğunlaşmıştır. K.B.Mullis'in 1983'te *Thermus aquaticus*'dan izole edilen ısıya dayanıklı taq DNA polimerazı, polimeraz zincir reaksiyonu tekniğinde başarı ile uygulaması, spesifik DNA dizilerinin in vitro şartlarda çoğaltılmasını mümkün hale getirmiştir. Hedef DNA/RNA dizilerinin çoğaltılması ve tanımlanmasını, modifiye PZR bazlı, daha duyarlı ve özgül yöntemlerin geliştirilmesine yönelik çabalar izlemiştir(113).

Nükleik asit amplifikasyon (NAA) teknolojisi, nükleik asit teknolojisinin en kompleks ve duyarlı olanıdır. PZR olguda az sayıda bulunan viral nükleik asitin (DNA/RNA) miktarını artırmayı amaçlar. Virüsün çoğaltılmak istenen özgül DNA segmenti hedef alınır. Çıkarılması amaçlanan özgül DNA segmentinin iki ucu için yaklaşık 20 bazlık özgül nükleotid dizileri (primerler) kullanılır. Bu şekliyle primerler biyolojik parantezlere benzetilebilir. PZR’ de primerlerin viral DNA’ ya tutunup karşıt sarmalı sentezleyebilmesi için serbest nükleotidlere ve ısıya dirençli tag DNA polimeraz enzimine gereksinim vardır. Bu karışım bir ısı düzenleyicisinin içine konur. Isı, önce 90-95 °C’ ye çıkarılarak DNA segmentleri ayrılır, sonra ısı 50-60 °C’ ye kadar düşürülerek primerlerin hedeflerine tutunması sağlanır. Ardından ısı tekrar 72 °C’ ye yükseltilerek orijinal DNA’ ya tutunmuş primerlerin 5’- 3’ yönünde uzaması sağlanır. Hedef DNA dizisinin bir kopyasının oluşmasıyla sonuçlanan bu işlem 30-40 kez yinelenildiğinde amplikon adı verilen çok sayıda PZR ürünü elde edilmiş olur. RNA genomu olan virüslerde PZR işleminden önce reverz transkripsiyonla komplementer DNA’ nın (cDNA) elde edilmesi gerekir. Bu yönteme ise RT-PZR denilmektedir. Duyarlılığı artırıcı nested PZR, birden çok viral genomu saptayıcı multipleks PZR gibi farklı ve yeni uygulamalar da bulunmaktadır (113,114).

Çoğu NAA yönteminde, ortaya çıkan amplikonu tesbit için nükleik asit problemleri ve agaroz jelde amplikonların etidyum bromidle boyanarak gösterilmesi yoluna gidilmektedir. NAA tekniklerinin, prob hibridizasyon testlerine göre en önemli avantajı daha analitik olmalarıdır. Prob hibridizasyon testleri ile gösterilemeyen, hatta kültürde izole edilemeyen miktarlardaki mikroorganizma, amplifikasyon yöntemleri ile gösterilebilir. Üstelik sadece prodüktif virüsleri saptayabilen immünohistokimyasal yöntemler karşısında latent dönemdeki virüsleri de saptayabilmesi önemli bir üstünlüktür (108,113,114).

Ayrıca çoğaltma testlerinde olgu kullanımı sınırlı değildir. İnfekte her türlü materyal tanı amacı ile kullanılabilir. Her türlü materyalin olgu olarak değerlendirilebildiği, hedef genlerin veya nükleik asitlerin in vitro şartlarda çoğaltılabilmesi ve tanımlanmasına imkan sağlayan bu yöntemler, normal gen yapısının analizinin yanı sıra genlerdeki insersiyon, delesyon ya da nokta mutasyonlarının gösterilebilmesine de yardımcı olmaktadır (113).

Yoğun olarak kullanıma giren NAA yöntemlerinin; DNA/RNA üzerindeki spesifik gen bölgelerinin hedef alındığı hedef çoğaltma yöntemleri, hedef ile hibridize olan problemlerin çoğaltıldığı prob çoğaltma yöntemleri ve hedef gen bölgesini



tanıyan işaretli problemler ile hedefle hibridizasyon sonrası sinyalin güçlendirildiği sinyal çoğaltma yöntemleri olmak üzere üç modifikasyonu kullanılmaktadır (113).

Hedef NAA yöntemleri içerisinde ilk ve en önemli olanı PZR'dir. PZR tıbbi araştırma alanlarının birçoğunda önemli kullanım alanı bulmuştur. Özellikle mikrobiyolojide müşkülpesent veya kültürü yapılamayan birçok mikroorganizmanın doğrudan tanısında oldukça başarı sağlamaktadır. Amplifikasyon metodları günümüzde, amplifiye ürünlerin hızlı tesbitini sağlayan metodlarla kombine olarak kullanılmaktadırlar. (113).

PZR, nükleik asitlerin in vitro şartlarda replikasyonu için geliştirilmiş bir test tüp sistemidir. Hedef DNA/RNA'nın selektif olarak çoğaltılmasına imkan verir. İn vivo şartlarda bölünen bir hücrede DNA'nın replikasyonu, çeşitli enzimler tarafından düzenlenen ve genomun kopyalanması ile sonuçlanan bir işlemdir. Bir test tüpü içerisinde gerçekleştirilen PZR'de in vivo çoğalma olgu olarak alınmıştır. Yalnızca DNA polimeraz enzimi yardımı ile genomun tamamı değil spesifik bölgelerin kopyalanması gerçekleştirilir. (113).

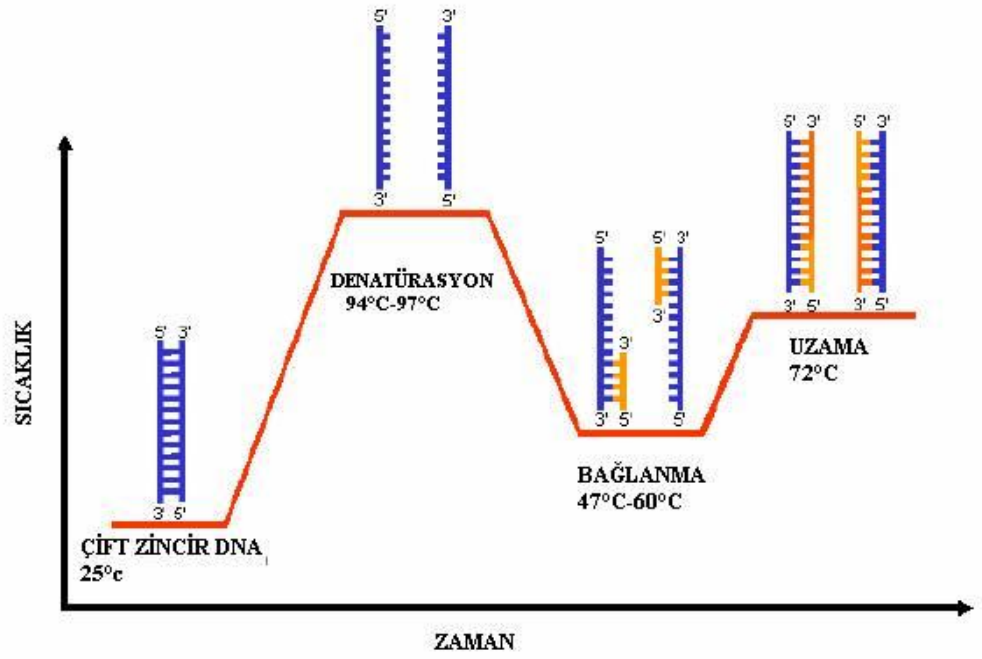
Bir PZR döngüsü şu aşamalardan oluşur (Şekil 7).

*1-Ayrılma (Denatürasyon):* Çift iplikli DNA'nın birkaç saniye 94-96 °C ısı ile tek iplikli DNA'ya ayrılmasıdır.

*2-Bağlanma (Annealing):* Örneğin, birkaç dakika 30-60 °C de tutularak, primerlerin (spesifik sentetik oligo nükleotidler) tek sarmal DNA'daki hedef bölgelere hibridizasyonunun sağlanmasıdır. Bu hidrojen bağlarının yardımı ile olur. Bağlanma ısı sadece DNA/DNA eşleşmesine imkan sağlayacak kadar yüksek olmalıdır.

*3-Uzama (Extension):* Polimeraz enzimi yardımı ile tek sarmal DNA kalıplarına bağlanan primerlerin 5'→3' yönünde uzatılmasıdır.

DNA zincirinin komplementerini sentezlemesi için 65-72 °C de birkaç dakika beklenir. Bağlanma sikluslarını takiben, orijinal DNA segmenti yeni komplementer DNA'lar ve yeni kalıp DNA'lar oluşturur. Böylece her PZR döngüsünde mevcut özgün DNA miktarı 2 katına çıkmaktadır. Bu işlem 30-40 kez tekrarlanarak çok sayıda hedef DNA eldesi mümkün hale gelir (113,114).



Şekil-7: Bir PZR döngüsünün aşamaları (115).

Çoğaltmadan sonra PZR ürünleri genellikle agaroz jel üzerindeki kuyucuklara yüklenir ve daha sonra elektroforeze tabi tutularak oluşan bantlar 270 nanometre dalga boyu ışık altında değerlendirilir (113).

## 4.GEREÇ ve YÖNTEM

### 4.1. Olguların Seçimi ve Hazırlanması

Çalışmaya İstanbul Adli Tıp Kurumunca sağlanan 36 olgu ve 2006-2007 yıllarına ait Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivindeki radikal prostatektomi ve sistoprostatektomi olguları taranarak seçilen, yeterli VS dokusu içeren 24 olgu olmak üzere, toplam 60 olgu alındı. Olguların yaş ortalaması 59 (40-95 yaş) olarak saptandı. Toplam 60 örneğin VS içeren tüm kesitleri yeniden değerlendirilerek en uygun parafin bloklar seçildi. Tüm olgulardan 4 µm kalınlığında kesitler yapılarak rutin Hematoksilen-Eozin ile boyandı.

Atipi varlığı ve şiddetinin yaşla bağlantısını değerlendirebilmek için de ortalama yaşı 59 olan (40-95 yaş arası) 60 olguluk çalışma grubu; yaş<60 ve yaş≥60 olanlar şeklinde orta ve ileri yaş grubu şeklinde ikiye ayrıldı. Bu durumda her grupta 30 olgu yer aldı.

Ayrıca olgular eşlik eden bir prostatik veya ürotelyal karsinomu olanlar ve beraberinde böyle bir karsinom bulunmayanlar olarak da gruplandırıldı. Bu şekilde 32 olgu bir karsinomla birlikte iken 28 olgu bu özellikte değildi.

### 4.2. Histopatolojik Değerlendirme Kriterleri

Preparatlar ışık mikroskobuyla histopatolojik olarak değerlendirildi. VS epitelindeki atipinin değerlendirilmesinde, nükleer pleomorfizm, nükleol belirginliği ve nükleer inklüzyon varlığı kriter olarak dikkate alındı. Bu kriterlerden nükleer pleomorfizm ve nükleol belirginliğinin değerlendirmesi tablo 5' teki gibidir.

**Tablo 5:** Nükleer pleomorfizm ve nükleol belirginliğinin değerlendirilmesi

Skor	Nükleer pleomorfizm	Nükleol belirginliği
0	Yok	Seçilebilir nükleol yok
1	Hafif	Birkaç alanda seçilebilir nükleol varlığı
2	Orta	Yaygın seçilebilir nükleol varlığı
3	Şiddetli	Belirgin nükleol varlığı

İntranükleer inklüzyonların değerlendirilmesinde ise; 0 = nükleer inklüzyon yokluğu, 3 = her boyut ve yaygınlıkta inklüzyon varlığı şeklinde skorlandı.

Atipi varlığının değerlendirilmesi ve derecelendirilmesi bu kriterlerden aldıkları toplam skora göre tablo 6' da gösterilmektedir:

**Tablo 6:** VS' deki atipi varlığı ve derecelendirilmesi

Toplam skor	Atipi
0	Yok
1-4	Hafif
5-9	Şiddetli

### **4.3. Parafin Blok Kesitlerinden DNA İzolasyonu, Primerler, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)**

#### **4.3.1. DNA İzolasyonu İçin Olguların Toplanması ve İşlenmesi**

Çalışmanın PZR aşaması Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan 7 µm'lik kesitler halinde alınmış parafinize doku olgularından 2-3 tanesi 1,5 ml'lik steril, nukleaz içermeyen mikrosantrifüj/ependorf (Dich Instrumentmakers APS, type 157. MP, Germany) tüplerine alınarak, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderildi ve DNA izolasyonu yapıncaya kadar 4<sup>0</sup>C' de saklandı.

#### **4.3.2. Cihazlar**

Bu çalışmada kullanılan demirbaş malzemelerin başlıcaları; hücre kültür etüvü (Heraus Co. UK), elektroforez aparatı (Consort E833, Belgium), elektroforez tankı, fotoğraf makinesi (Polaroid, UK) ve fotoğraf filmi (Polaroid 667), ısı bloğu (Major Science MD-02, Belgium), santrifüj cihazı (Hettich Zentrifugen Mikro 22R, Germany), PZR cihazı (AB Applied Biosystems 2720 thermal Cycler, Singapur), UV transilluminatör (Vilber Lourmat, France), elektronik hassas terazi (Sartorius BÇ 410, Germany) ve hız ayarlı vorteks (VELP Scientifica, Italy).

#### **4.3.3. Kontrol Virüsler**

Tüm PZR aşamalarında pozitif kontrol olarak kullanılan, HSV-2 333 suşları Karadeniz Teknik Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edildi. Kuru buz içerisinde getirtilen virüsler hücre kültürüne ekilinceye kadar -80 °C'de saklandı. Ayrıca yine PZR aşamalarında pozitif kontrol olarak kullanılan EBV DNA'sı

ise, Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi'nden sağlanan enfekte lökosit hücre kültüründen elde edilerek kullanıldı.

#### **4.3.4. Hücre Kültürü ve Virüs Üretilmesi**

HSV-2 virüsünün üretilmesi amacıyla devamlı hücre hattı olan Madin-Darby sığır böbrek (MDBK) hücreleri (American Type Culture Collection, MD, USA) kullanıldı.

Hücre kültürü esnasında, hücrelerin çoğaltılması için, % 10 Föetal Sığır Serum (FBS)' u içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium Nutrient Mixture F-12 (DMEM) vasatı (Sigma, F-2442, USA) kullanıldı. Vasatların hazırlanması esnasında her ml vasat için 0,01 mg Streptomisin, 100 ünite penisilin vasata ilave edildi. Virüs üretimi amacıyla ise % 1 FBS içeren DMEM vasatından faydalanıldı.

HSV-2 virüsünün ekimi, 25 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür kaplarında üretilen ve kap yüzeyinin % 80'inde tek tabaka oluşturmuş olan MDBK hücrelerine adsorpsiyona bağlı metot ile gerçekleştirildi. Hücreler günlük olarak mikroskopta incelendi.

Hücrelerin yaklaşık % 70'inde sitopatik etkinin (CPE) görüldüğü aşamada kültür kapları önce -20 °C'de bir saat tutuldu, sonra 37 °C'ye alındı. Tam çözünmeden sonra, kaplardaki içerik 10 ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı ve 3000 rpm'de (Hettich Zentrifugen Mikro 22R, Tuttlingen, Germany) 10 dk. santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Santrifüjle hücre artıklarından arındırılan üst sıvılar 0,5 ml'lik kısımlara bölünerek, PZR'de kullanılmaya kadar -80 °C'de saklandı.

#### **4.3.5. Kontrol Virüslerinden DNA İzolasyonu**

HSV-2 enfekte hücre üst sıvılarından ve EBV enfekte hücrelerden DNA izolasyonu klasik fenol-kloroform ekstraksiyon metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla, -80 °C'den çıkartılıp 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılan 100 µl virüs olguları üzerine 500 µl K-Tamponu (20 mM Tris (pH 8.0), 10 mM EDTA, % 0.5 SDS ve 2 mg/ml proteinase-K) ilave edildi. Sindirim için 37 °C'de iki saat bekletildi. Tüplere 600 µl fenol-kloroform ilave edildi ve bir dakikalık vorteks işlemi gerçekleştirildi. Tüpler 12000 rpm'de 15 dk. santrifüj edildikten sonra, yüzeydeki sıvılar temiz 0,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı. Tüplere 1/10 volüm 3 M Na-Asetat (pH 5.2) ve 2 volüm absolü etanol (Scharlau ET 006, Germany) ilave edildi. Vorteksleme ve -80 °C'de iki saat bekletmeyi takiben, 12000 rpm'de 15 dakikalık santrifüj işlemi tekrarlandı. Yüzeydeki sıvılar uzaklaştırıldı ve pellet DNA'lar üzerine % 70'lik etanol eklenip hafif vortekslendi. Santrifüj işlemi tekrar edildikten sonra, yüzeydeki sıvılar

döküldü ve tüplerde bulunabilecek alkolün tam olarak uzaklaşması için, DNA peletleri oda ısısında kurumaya bırakıldı. Kurutulmuş DNA peletleri 50 µl steril dH<sub>2</sub>O ile sulandırıldı ve PZR’de kullanılmaya kadar –20 °C’de saklandı.

#### **4.3.6. PZR’nin Saptama Eşiğinin Tespiti**

Çalışmada yer alan viral etkenlerin ekstraksiyon ve PZR’in duyarlılığını test etmek için pozitif kontrol olarak kullanılan ve titresi belirlenen HSV-2 standart suşunun 10 kat azalan dilusyonları ile gerçekleştirilen çalışmada, PZR’in saptama eşiği yaklaşık 20 virüs partikülü olarak kaydedildi.

#### **4.3.7. Parafin Blok Kesitlerinden DNA İzolasyonu**

Tüm olgulardan DNA izolasyonu, DNA izolasyon kitiyle (TaKaRa, Shiga, Japan), üretici firmanın önerileri doğrultusunda aşağıdaki işlemler yapılarak gerçekleştirildi:

1. Üzerlerine 1 ml xylene eklenerek hız ayarlı vorteks cihazında (Labinco L46, Netherlands) karıştırıldı ve parafinin uzaklaştırılması için on dakika boyunca oda ısısında sindirime bırakıldı.
2. Tüm ependorf tüpleri santrifüj cihazında 14.000 rpm’ de üç dakika süreyle santrifüj edilerek süpernatant ayrıldı.
3. Parafinin tamamen giderilmesi için bu işlemler iki kez tekrar edildi.
4. Ependorf tüplerine 1 ml % 96’lık etanol eklenerek iyice karıştırıldı ve 14.000 rpm’ de 3 dakika santrifüj edilerek oluşan süpernatant atıldı
5. Daha sonra 1 ml %90 etanol eklenerek karıştırıldı. 14.000 rpm’ de üç dakika santrifüj edilerek oluşan süpernatant atıldı.
6. Tekrar 1 ml %70 etanol eklenerek karıştırıldı ve 14.000 rpm’ de üç dakika santrifüj edildi.
7. Ependorfun dip kısmında DNA, açık renkli bir pellet olarak gözlendi. Tüp hafifçe eğilerek süpernatant döküldü.
8. Ependorf tüplerinde kalanlar iki saat oda ısısında kurumaya bırakıldı.
9. Üzerlerine 200 µl DL solüsyonu ve 20 µl proteinaz K eklenerek karıştırıldı.
10. 56 °C’ye ayarlanmış ısı bloğunda (Major Science MD-02, Belgium) bir saat boyunca, her on dakikada bir, tüp karıştırılarak partikül kalmayınca kadar dokunun sindirilmesi sağlanarak inkübasyona bırakıldı.
11. 250 µl solüsyon B eklenerek karıştırıldı.

12. 10.000 rpm'de 30 saniye kısa santrifüj yapılarak 65 °C'ye ayarlı ısı bloğunda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
13. Üzerlerine 200 µl %96'lık etanol eklenerek karıştırıldı. Yine 10.000 rpm'de 30 saniye kısa santrifüj yapılan bu karışım, kitle beraber verilen koleksiyon tüpündeki kolona aktarıldı.
14. Bir dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj edilerek sıvının boşaldığı tüp atıldı ve kolon yeni bir koleksiyon tüpüne sıkıştırıldı.
15. Üzerlerine 700 µl W1 solüsyonu eklenerek 10.000 rpm'de bir dakika boyunca santrifüj edildi. Sıvının boşaldığı tüp atıldı ve kolon yeni bir koleksiyon tüpüne sıkıştırıldı.
16. Üzerlerine 700 µl W2 solüsyonu eklenerek 10.000 rpm'de bir dakika boyunca santrifüj edildi. Sıvının boşaldığı tüp atıldı ve kolon yeni bir koleksiyon tüpüne sıkıştırıldı.
17. 14.000 rpm'de 30 saniye boyunca santrifüj edildi ve kolon 1,5 ml'lik koleksiyon tüpüne aktarıldı.
18. 200 µl E solüsyonu eklenerek üç dakika oda ısısında bekletildi.
19. 14.000 rpm'de bir dakika boyunca santrifüj edildi.
20. Kolon atılarak ependorf tüpü, içine akmış olan sıvı ile birlikte alındı. Genomik DNA içeren bu sıvı kullanılıncaya kadar -20 °C' de saklandı.

Bu işlemlerin ardından DNA izolasyonu ve PZR yönteminin kontrolü amacıyla, elde edilen total DNA miktarı spektrofotometrede (LKB Biochrom Ultraspec Plus 4054 UV/visible spectrophotometer, Cambridge, England) OD280/OD260'da ölçüldü. Daha sonra elde edilen DNA'ların 10 kat sulandırılması DNase ve RNase'dan arındırılmış deiyonize suda gerçekleştirildi. Her bir sulandırma ve β-globin primerleriyle PZR cihazında gerçekleştirilen işlem sonucunda, yöntemin saptama eşiği yaklaşık on hücresel DNA olarak tespit edildi.

#### **4.3.8. Primerler (oligonükleotid dizileri)**

Çalışmada, Iontek firmasına sentezlettirilmiş olan primerler kullanıldı. Ayrıca kullanılan diğer primerlerden farklı olarak, HSV-2 DNA varlığı ise özel bir primer dizayn programıyla elde edilen primerler kullanılarak gösterildi.

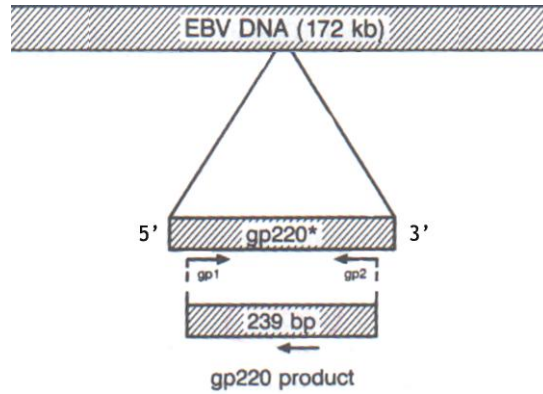
Çalışmada kullanılan primerlerin nükleotid dizileri ve PZR ürün boyutları tablo 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 7:** Çalışmada kullanılan primerler (116-118).

Primer Adı	Hedef bölge	Ürün uzunluğu (bp)	Primer Dizilimi
β-globin S-GH20 (P1)		268 bp	5' GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC 3'
β-globin (P2)			5' CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC 3'
EBV (P1)	gp220	239 bp	5' GGC TGG TGT CAC CTG TGT TA 3'
EBV (P2)	gp220		5' CCT TAG GAG GAA GTC CC 3'
PM1 (+)	Large-T antijeni		5' TCY TCT GGN NTA AAR TCA TGC TCC 3'
PM1 (-)	Large-T antijeni		5' AA WTA GRT KCC AAC CTA TGG AAC 3'
PM2	Large-T antijeni		5' GGT AGA ATA CCC YAA RGA CTT TCC 3'
BKV	Large-T antijeni	353 bp	5' GAA TGC TTT CTT CTA TAG TAT GGT AT 3'
SV40	Large-T antijeni	135 bp	5' ATA ATT TTT TTG TAT AGT AGT GCA 3'
HSV2 (P1)	gpC	354 bp	5' TGA CGT TTG CCT GGT TCC TG 3'
HSV2 (P2)	gpC	354 bp	5' GTT ACC GCA GCC GAC GAT AG 3'

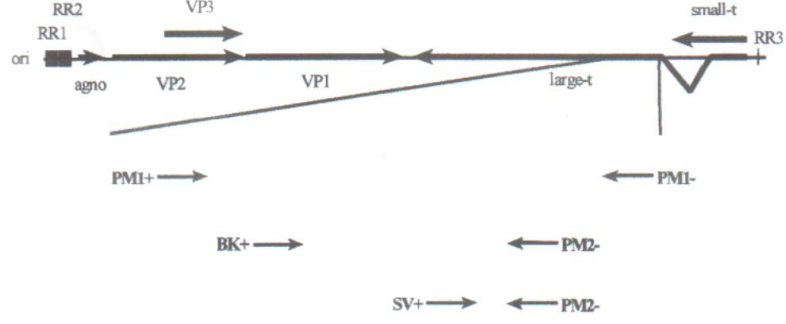
(**W**:A ya da T, **M**: A ya da C, **R**: A ya da G), (**Y**:C ya da T, **bp**: baz çifti)

Çalışmada EBV, BK ve SV40 virüsleri için kullanılan primerlerin genom üzerindeki temsil ettikleri bölgeler şekil 8 ve şekil 9' da belirtilmiştir.



**Şekil 8:** EBV PZR için kullanılan primerlerin genom üzerindeki temsil ettikleri bölge (116,117).





**Şekil 9:** BK ve SV40 virüsleri için kullanılan primerlerin genom üzerinde temsil ettikleri bölgeler (118)

#### 4.3.9. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

##### 4.3.9.1. $\beta$ -Globin Spesifik PZR

Parafin bloklardan alınan doku kesitlerinden elde edilen toplam 60 DNA örneği için, öncelikle  $\beta$ - globin primerleri ile PZR kurularak hücresel DNA'nın varlığı ve DNA izolasyonunun başarısı kontrol edildi. Çoğaltma için  $\beta$ -globin P1 (5' GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC 3') ve  $\beta$ -globin P2 (5' CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC 3') primerleri kullanıldı (117).

Her tüpe olgu başına 5  $\mu$ l  $MgCl_2$ , 5  $\mu$ l buffer, 4  $\mu$ l dNTP (2.5 mM), 1  $\mu$ l ileri (forward) primer, 1  $\mu$ l geri (reverse) primer, 0.5  $\mu$ l Taq DNA polimeraz ve 23.5  $\mu$ l  $dH_2O$ 'dan oluşan PZR karışımı ve 10  $\mu$ l template DNA konularak toplam 50  $\mu$ l üzerinden PZR kuruldu. Tüpler cihaza yerleştirilerek ilk aşamada çift sarmal DNA moleküllerinin denatüre edilmesi amacıyla 94°C'de 4 dakikalık bir ön ısıtmaya tabi tutuldu. PZR işleminin ikinci aşamasında ise, sırasıyla 94°C'de bir dakika ayrılma 56°C'de bir dakika bağlanma, ve 72°C'de bir dakika uzatma olmak üzere toplam 36 döngü üzerinden ısı döngü cihazında gerçekleştirildi. Otuzaltı döngünün sonunda üçüncü aşama olan uzatma periyodu için 72°C'de on dakika tutuldu. Çoğaltma sonrası elde edilen ürünler, ethidium bromidli % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek bantlar ayırt edildi ve UV transilluminatör ile oluşan bantlar incelendi. Daha sonra ise bant profilleri fotoğraf makinesi (Polaroid, UK) ve fotoğraf filmi (Polaroid 667) kullanılarak görüntülendi.

##### 4.3.9.2. EBV ve HSV-2 virüsleri için spesifik PZR

Bu aşamada EBV için, gp220 gen bölgesine (şekil 8) spesifik olan ileri P1 (5' GGC TGG TGT CAC CTG TGT TA 3') ve geri P2 (5' GGC TGG TGT CAC CTG TGT TA 3') primerleri (116,117), HSV-2 için ise özel bir primer dizayn programıyla

elde edilen, gpC gen bölgesine spesifik olan ileri P1 (5' TGA CGT TTG CCT GGT TCC TG 3') ve geri P2 (5' GTT ACC GCA GCC GAC GAT AG 3') primerleri kullanılmıştır.

Her bir tüpe olgu başına, yukarıda içeriği verilen ve  $\beta$ -globin yerine EBV ve HSV-2' nin kendi ileri ve geri primerlerinin eklenmesiyle oluşan PZR karışımı ve 10  $\mu$ l template DNA konularak toplam 50  $\mu$ l üzerinden PZR kuruldu. Tüpler cihaza yerleştirilerek ilk aşamada, çift sarmal DNA 94°C'de üç dakikalık bir ön ısıtmaya tabi tutuldu. Daha sonra PZR işleminin ikinci aşamasında ise, sırasıyla 94°C'de bir dakika ayrılma, 56°C'de bir dakika bağlanma, 72°C'de bir dakika uzatma olmak üzere 40 döngü üzerinden gerçekleştirildi. Kırk döngünün sonunda üçüncü aşama olan uzatma periyodu için 72°C'de 15 dakika tutuldu. Çoğaltma sonrası elde edilen PZR ürünleri ethidium bromidli % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek bantlar ayrıldı ve UV transilluminatör ile oluşan bantlar incelendi. Daha sonra ise bant profilleri fotoğraf makinesi ve fotoğraf filmi kullanılarak görüntülendi.

Bu PZR çalışmasının her aşamasında pozitif ve negatif kontroller kullanıldı. Pozitif kontrol olarak, yukarıda anlatıldığı gibi elde edilen EBV ve HSV-2 virüslerine ait DNA'lar kullanıldı. Negatif kontrol olarak ise, hem DNA izolasyonu, hem de PZR aşamalarında steril DEPC'li su kullanıldı. Ayrıca değerlendirilme sonucunda pozitif bulunan bütün ürünler, doğruluğu teyit etme açısından ikinci kez tekrar çalışıldı.

#### **4.3.9.3. BKV ve SV40 virüsleri için spesifik nested PZR**

Polyoma virüs ailesinden olan BKV ve SV40 virüslerini belirlemeye yönelik nested PZR aşamasında kullanılan primerler Fedele ve arkadaşlarının (118) yaptıkları çalışmadan seçildi. Bunun için öncelikle polyoma virüs genomu üzerinde bulunan büyük T antijenine (TAg) ait gen gölgesi üzerinden bir bölge, PM1+ (P1: 5' TCY TCT GGN NTA AAR TCA TGC TCC 3') ve PM1 - (P2: 5' AA WTA GRT KCC AAC CTA TGG AAC 3') primerleri kullanılarak çoğaltıldı. Sonra bu çoğaltma işleminden elde edilen ürünlerden alınarak, BKV DNA pozitifliğini belirlemek için BKV (P4-5' GAA TGC TTT CTT CTA TAG TAT GGT AT 3') ve PM2 (P3-5' GGT AGA ATA CCC YAA RGA CTT TCC 3') içsel primerleri ve SV40 DNA pozitifliğini tespit edebilmek için ise SV40 (P5-5' ATA ATT TTT TTG TAT AGT AGT GCA 3') ve PM2 (P3-5' GGT AGA ATA CCC YAA RGA CTT TCC 3') içsel primerleri kullanılarak her bir virüs için ayrı ayrı nested PZR yapıldı.

Nested PZR'nin birinci aşaması için, her bir tüpe olgu başına 5 µl MgCl<sub>2</sub>, 5 µl buffer, 4 µl dNTP (2.5 mM), 1 µl ileri (PM1+/P1) primer ve 1 µl geri (PM1-/P2) primer, 0.5 µl Taq DNA polimeraz ve 23.5 µl dH<sub>2</sub>O'dan oluşan PZR karışımı ve 10 µl template DNA konularak toplam 50 µl üzerinden PZR kuruldu. Tüpler cihaza yerleştirilerek, EBV ve HSV-2 için kullanılan PZR koşulları uygulandı. Sadece döngü sayısı otuz altı olarak değiştirildi.

Nested PZR'nin ikinci aşamasında BKV için, birinci PZR ürünlerinden 2 µl DNA kalıp olarak kullanılırken, primer olarak BKV-P4 ve PM2-P3 primerleri seçildi. SV40 için ise yine aynı miktarda DNA kullanıldı ve primer olarak ise SV40-P5 ve PM2-P3 primer eşleşmesi yapılarak, reaksiyon karışımı yukarıda anlatıldığı gibi 50 µl üzerinden hazırlandı. Tüplerin cihaza tekrar yerleştirilmesinden sonra ise yine yukarıdaki PZR koşullarında fakat yirmi sekiz döngüde işlem gerçekleştirildi. Reaksiyon sonunda elde edilen ürünler ethidium bromidli % 2'lik agaroz jelde yürütülerek elektroforezle ayırt edildi. Daha sonra ise UV transilluminatör ile oluşan bantlar incelenerek bant profilleri fotoğraf makinesi ve fotoğraf filmi ile görüntüledi

Çalışmanın her aşamasında (hem DNA izolasyonu, hem de PZR aşamalarında) negatif kontrol olarak, steril DEPC'li su kullanıldı. Bu aşamada çalışılan virüsler için pozitif kontrol bulunmadığı için kullanılmadı. Ayrıca PZR ve elektroforez işlemi değerlendirilmesi sonucunda pozitif bulunan bütün ürünler, doğruluğu teyit etme aşısından tekrar çalışıldı.

#### **4.3.10. Agaroz Jel Elektroforezi**

Tüm PZR çoğaltma ürünleri etidyum bromidli %2'lik agaroz jelde yürütülerek elektroforezle göç ettirildi ve UV transilluminatörde incelenerek oluşan bantlar görüldü. %2'lik agaroz jel hazırlamak için iki gram agaroz (Applichem, Germany) hassas terazide (Sartorius BÇ 410, Germany) tartılarak 100 ml TAE [Bu solüsyonun önce 50X'lik stok şekli hazırlandı. Bu amaçla 242 gr TRIS-base, 57.1 gr glacial asetik asit ve 100 ml 0.5 M EDTA (etilendinitrilotetraasetik asit, pH 8) bir litre distile suda çözüldü. Bu stok solüsyonu kullanılırken 50 kat distile suda karıştırılarak kullanılır hale getirildi] solüsyonunda kaynatılmak suretiyle eritildi. Eriyen agaroz-TAE solüsyonu karışımı 60 °C'ye soğutulduktan sonra, içine DNA bantların ultraviyole ışık altında görünür hale gelmesini sağlamak için 15 µl ethidium bromid eklenerek iyice homojenize edildi. Sıvı halde olan jel, katılaşması için jel kalıbına döküldü.

PZR ürünlerinden 10 µl alınıp, 3 µl yükleme tamponu (%30 gilserol, %0.25 BPB-bromphenol blue ve %0.25 XC-xylene cyanole 100 ml su içerisinde çözülerek hazırlanıp 3'er µl'lik hacimlere ayrılarak yükleme işlemlerinde kullanılan tampon) ile karıştırıldı. Daha sonra elektroforez tankı (Consort E833, Belgium) içine yerleştirilmiş olan jeldeki kuyucuklara yüklendi. Beklenen bant boyutlarının belirlenebilmesi amacıyla 50 bç'lik ve 100 bç'lik DNA markeri (fermentas) de jele yüklendi. Jel 15-20 dk süre ile 150 volt sabit akım sağlayan güç kaynağından (Consort E833, Belgium) yararlanılarak elektroforez yapıldı ve UV transilluminatör cihazı ile görüntüleme sonrası bantlar değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Histopatolojik Bulgular

#### 5.1.1. Atipi ve Yaş İlişkisi

Atipi kriterlerimize göre olguların % 18.3' ü (11/60) atipisiz gruba (Şekil-10), % 81.7' si (49/60) atipili gruba dahildi. Atipili 49 örneğin ise % 51' i (25/49) hafif (Şekil 11) ve % 49' u (24/49) şiddetli atipi (Şekil 12) grubunda yer aldı. Olguların ortalama yaşı 59 (40-95) olup <60 olanlar orta yaş grubu (40-59), ≥60 olanlarsa ileri yaş grubu (60-95) olarak ayrıldığında her iki grupta 30 olgu yer aldı. Bu durumda şiddetli atipi orta (13 olgu) ve ileri (11 olgu) yaş grubunda birbirine yakın sayıdayken (13 ve 11 olgu) hafif atipi orta yaş grubunda daha yüksek (15 ve 10 olgu) bulundu. Sadece atipi varlığı açısından bakıldığında ise atipili olgular, % 57.1' lik (28/49) oranla orta yaş grubunda daha yüksek bulundu. İlginç olarak 11 atipisiz örneğin ise % 81.8' i (9/11) ileri yaş grubunda bulundu. Atipi varlığının yaş gruplarına dağılımında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon bulundu ( $p=0.038$ ). Olgulardaki atipi özelliğinin yaş gruplarına dağılımı tablo 8' de özetlenmiştir:

**Tablo 8:** Atipi ve yaş ilişkisi

Yaş	Atipi		
	Yok	Hafif	Şiddetli
<60	2	15	13
≥60	9	10	11

Atipi kriterlerinden nükleer pleomorfizm olguların % 20' sinde (12/60) görülmedi. Nükleer pleomorfizm görülmeyen olguların % 75' i (9/12) ilginç olarak ileri yaş grubunda bulundu. Ancak olguların % 80' inde (48/60) görülen nükleer pleomorfizmin % 56.3' ü (27/48) orta yaş grubunda, % 43.8' i (21/48) ileri yaş grubunda olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Diğer atipi kriterimiz olan nükleol belirginliği olguların % 70' inde (42/60) görüldü. Bu 42 olgudaki nükleol belirginliğinin orta ve ileri yaş grubunda dağılımı birbirine yakındı (23 ve 19 olgu) ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ).

### 5.1.2 İntranükleer İnküzyon ve Yaş İlişkisi

Atipi değerlendirmemizde dikkate aldığımız ve viral sitopatik etki olabileceğini düşündüğümüz intranükleer inküzyon (Şekil 13) olguların % 41.7' sinde (25/60) görüldü. İntranükleer inküzyon görülen olguların % 52' si (13/25) orta yaş grubunda, % 48' i (12/25) ileri yaş grubunda olup birbirine oldukça yakın oranlardaydı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ). İnküzyon varlığının yaş gruplarıyla ilişkisi tablo 9' da gösterilmiştir:

**Tablo 9:** İntranükleer inküzyon varlığı ve yaş ilişkisi

İnküzyon	Yaş	
	<60	≥60
Yok	17	18
Var	13	12

### 5.1.3 Atipi ve Virüs ilişkisi

Olguların % 51.7' sinde (31/60) EBV saptandı. EBV pozitif 31 örneğin %74.2' si (23/31) atipili grupta yer aldı. EBV pozitif 31 örneğin % 32.1' i (10/31) hafif, % 41.9' u (13/31) şiddetli atipili grupta yer alırken %25.8' i (8/31) ise atipisiz grupta bulundu. EBV pozitifliği açısından atipili grupla, atipisiz grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Olguların % 25' inde (15/60) BKV için pozitiflik saptandı. BKV pozitifliği hafif ve şiddetli atipili grupların her birinde % 46.6 (7/15) oranında bulundu. BKV pozitifliğinin dağılımı ile atipi varlığı ve derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ).

SV40 olguların % 35' inde (21/60) pozitif bulundu. Atipili olgulardaki SV40 pozitifliğinin % 56.3' ü (9/16) şiddetli, % 43.7' si (7/16) hafif atipili olgular içinde yer aldı. SV40 pozitifliğinin dağılımı ile atipi varlığı ve derecesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Olguların % 18.3' ü (11/60) HSV-2 için pozitif bulundu. Pozitif olguların % 81.8' i (9/11) atipili grupta yer aldı. HSV-2 pozitifliği bakımından atipili ve atipisiz olgular arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). HSV-2 pozitif

atipili olguların % 44.4' ü (4/9) şiddetli, % 55.6' sı (5/9) hafif atipili gruptan olup birbirine yakın oranlardaydı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0.05$ ). Olgulardaki virüs varlığının atipi özelliğine göre dağılımı Tablo 10' da özetlenmiştir:

**Tablo 10:** Atipi ve virüs ilişkisi

Atipi	EBV		BKV		SV40		HSV-2	
	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var
Yok	3	8	10	1	6	5	9	2
Var	26	23	35	14	33	16	40	9
– Hafif	15	10	18	7	18	7	20	5
– Şiddetli	11	13	17	7	15	9	20	4

EBV: Epstein-Barr virüs, BKV: BK virüs, SV40: Simian virüs 40, HSV-2: Herpes simpleks virüs tip 2

#### 5.1.4. Atipi ve Viral Yük İlişkisi

Tek virüs ve aynı olguda birden fazla virüs pozitifliği dikkate alındığında, olguların % 63.3' ünde (38/60) sadece bir, % 33.3' ünde (20/60) ise aynı anda iki virüs pozitif bulundu. Sadece %3.3 (2/60) olguda virüs saptanmadı. Hiçbir olguda üç ya da dört virüsün bir arada pozitifliğine rastlanmadı. Atipisiz 11 örneğin % 54.5' i (6/11) bir virüs, % 45.5' i (5/11) ise aynı olguda iki virüs pozitif bulundu. Atipili olguların ise % 95.6' sı (47/49) en az bir virüs pozitifken % 4.4' ü (2/49) virüs negatif bulundu. Atipili ve virüs pozitif 47 örneğin % 68.1' inde (32/47) bir virüs, % 31.9' unda (15/47) ise iki virüs birlikte pozitif bulundu (Tablo 11). Atipi varlığıyla bir ya da aynı anda iki virüs pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ). İki virüsün birlikte pozitif olduğu 5 atipisiz ve 15 atipili toplam 20 örneğin % 75' inde (17/20) virüslerden birisinin EBV olması dikkat çekici bulundu.

**Tablo 11:** Atipi ve viral yük ilişkisi:

Atipi	Virüs yok	Tek virüs	İki virüs
Yok	0	6	5
Hafif	2	17	6
Şiddetli	0	15	9

### 5.1.5. Yaş ve Virüs ilişkisi

Yaş gruplarına göre virüs varlığını değerlendirdiğimizde; EBV pozitif 31 örneğin % 41.9' u (13/31) orta yaş, % 58.1' i (18/31) ileri yaş grubundaydı. BKV pozitif 15 örneğin % 53.3' ü (8/15) orta yaş, 46.7' si (7/15) ileri yaş grubundayken SV40 için pozitif bulunan 21 örneğin % 57.1' i (12/21) orta, % 42.9' u (9/21) ileri yaş grubundaydı. HSV-2 pozitif 11 örneğin % 45.5' i (5/11) orta ve % 54.5' i (6/11) ileri yaş grubundaydı. Yaş gruplarıyla virüs varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ), (Tablo 12):

**Tablo 12:** Yaş ve virüs ilişkisi

Yaş	EBV		BKV		SV40		HSV-2	
	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var
<60	17	13	22	8	18	12	25	5
≥60	12	18	23	7	21	9	24	6

**EBV:** Epstein-Barr virüs, **BKV:** BK virüs, **SV40:** Simian virüs 40, **HSV-2:** Herpes simpleks virüs tip 2

### 5.1.6. Eşlik Eden Karsinom ve Yaş ilişkisi

Çalışma kapsamındaki olguların VS' lerinde karsinom olmamasına karşın olguların % 53.3' ünde (32/60) eşlik eden bir prostatik veya ürotelyal karsinom mevcuttu. Eşlik eden karsinomu olan olguların % 65.6'sı (21/32) ileri ve % 34.4' ü (11/32) orta yaş grubundaydı. Karsinom varlığı açısından ileri yaş grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ( $p=0.009$ ), (Tablo 13).

**Tablo 13:** Eşlik eden karsinom ve yaş ilişkisi

Karsinom	Yaş	
	<60	≥60
Yok	19	9
Var	11	21



### 5.1.7. Eşlik Eden Karsinom ve Virüs İlişkisi

Karsinomla birlikte bulunan olguların % 65.6' sında (21/32) ve bulunmayan olguların ise % 35.7 sinde (10/28) EBV pozitif bulundu. EBV için bir karsinom eşliğinde pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı bir farka sahiptir ( $p=0.02$ ). Bununla beraber BKV, eşlik eden bir karsinomu bulunan olguların % 21.9' unda (7/32) ve bulunmayan olguların % 28.6' sında (8/28) pozitifdir. Bu oranlar SV40 için sırasıyla % 31.3 (10/32) ve % 39.3 (11/28), HSV-2 için ise % 21.9 (7/32) ve % 14.3 (4/28) şeklindedir. Eşlik eden bir karsinom bulunmasıyla BKV, SV40 ve HSV-2 varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ). (Tablo 14):

**Tablo 14:** Karsinom ve virüs ilişkisi

EşlikEden Karsinom	EBV		BKV		SV40		HSV-2	
	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var
Yok	18	10	20	8	17	11	24	4
Var	11	21	25	7	22	10	25	7

**EBV:** Epstein-Barr virüs, **BKV:** BK virüs, **SV40:** Simian virüs 40, **HSV-2:** Herpes simpleks virüs tip 2

### 5.1.8. Eşlik Eden Karsinom ve Viral Yük İlişkisi

Olgularda virüs yokluğu yanında tek virüs ve aynı olguda birden fazla virüs varlığını değerlendirdiğimizde, olguların % 63.3' ünde (38/60) sadece bir, % 33.3' ünde (20/60) ise aynı anda iki virüs pozitif bulundu. Sadece %3.3 (2/60) olguda çalışma kapsamındaki virüslerden hiçbiri saptanmazken % 96.7 (58/60) olguda en az bir virüs saptandı. Olguların hiçbirinde üç ya da dört virüsün bir arada pozitifliği yoktu. Bir virüs pozitifliği, eşlik eden bir karsinomu bulunan ve karsinomu bulunmayan olgularda % 50' lik (19/38) oranla eşit bir dağılıma sahipti. Buna karşın aynı anda iki virüs pozitifliklerinin % 35' i (7/20) karsinomun eşlik etmediği olgularda, % 65' i (13/20) ise eşlik eden bir karsinoma sahip olgularda bulundu (Tablo 15). Tek virüs pozitifliği açısından, eşlik eden bir karsinomu olan/olmayan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmazken ( $p>0.05$ ), aynı anda iki virüs pozitifliği açısından eşlik eden bir karsinomu olan olgular lehine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $p=0.0097$ ).

**Tablo 15:** Eşlik eden karsinom ve viral yük ilişkisi

Karsinom	Virüs yok	Tek virüs	İki virüs
Yok	2	19	7
Var	0	19	13

### 5.1.9 İntranükleer İnküzyon Varlığının Virüslerle İlişkisi

Atipi kriterlerinin önemli bir bileşeni olan ve viral sitopatik etki olabileceğini düşündüğümüz intranükleer inküzyon varlığı olguların % 41.7' sinde (25/60) bulundu. İnküzyon bulunan olguların % 56' sı (14/25) EBV, % 28' i (7/25) BKV, % 36' sı (9/25) SV40 ve % 16' sı (4/25) HSV-2 pozitif bulundu. Buna karşın inküzyon bulunmayan olgularda bu virüslerin pozitifliği EBV için % 48.6 (17/35), BKV için % 22.3 (8/35), SV40 için % 34.3 (12/35) ve HSV-2 için % 20 (7/35) olarak bulundu (Tablo 16): Nükleer inküzyon varlığı ile virüs varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ).

**Tablo 16:** İntranükleer inküzyon ve virüslerin ilişkisi

İnküzyon	EBV		BKV		SV40		HSV-2	
	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var
Yok	18	17	27	8	23	12	28	7
Var	11	14	18	7	16	9	21	4

**EBV:** Epstein-Barr virüs, **BKV:** BK Virüs, **SV40:** Simian virüs 40, **HSV-2:** Herpes simpleks virüs tip 2

### 5.1.10. Nükleer Pleomorfizm ve Virüs Varlığı

Olgularımızın atipi açısından değerlendirilmesinde göz önünde bulundurduğumuz bir diğer kriter olan nükleer pleomorfizm ise olguların % 80' inde (48/60) farklı derecelerde mevcuttu. Nükleer pleomorfizm gösteren toplam 48 örneğin % 45.8' i (22/48) EBV pozitif bulundu (Tablo 17). Nükleer pleomorfizm varlığı ve dereceleriyle EBV pozitifliği ve dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ).

Aynı şekilde nükleer pleomorfizm gösteren olgularda BKV pozitifliği % 29.2 (14/48), SV40 pozitifliği % 31.2 (15/48) oranında bulundu (Tablo 17). Nükleer

pleomorfizm varlığı ve dereceleriyle BKV ve SV40 pozitifliği ve dağılımı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

HSV-2 pozitifliği nükleer pleomorfizm gösteren olguların % 18.8 (9/48)' inde, nükleer pleomorfizm göstermeyen olguların % 16.7' sinde (2/12) saptandı (Tablo 17). Nükleer pleomorfizm varlığı ve şiddetiyle HSV-2 pozitifliği arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 17:** Nükleer Pleomorfizm ve virüslerin ilişkisi

Pleomorfizm	EBV		BKV		SV40		HSV-2	
	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var	Yok	Var
Yok	3	9	11	1	6	6	10	2
Var	26	22	34	14	33	15	39	9
– Hafif	11	9	15	5	16	4	14	6
– Orta	13	11	16	8	15	9	21	3
– Şiddetli	02	2	3	1	2	2	4	0

**EBV:** Epstein-Barr virüs, **BKV:** BK Virüs, **SV40:** Simian virüs 40, **HSV-2:** Herpes simpleks virüs tip 2

### 5.1.11. Nükleol Belirginliği ve Virüs İlişkisi

Çalışmamızdaki bir diğer atipi kriterimiz olan nükleol belirginliği olgularımızın % 30' unda (18/60) görülmemiştir. Kalan 42 örneğin %54.8' i (23/42) hafif, %35.8' i (15/42) orta derecede ve % 9.5' u (4/42) şiddetli nükleol belirginliği göstermektedir. Bu özellikler üzerinden olgulardaki virüs pozitifliklerine baktığımızda, nükleol belirginliği olmayan olgularda EBV pozitifliği % 55.6 (10/18) bulundu. Nükleol belirginliği gösteren olgularda EBV pozitifliği ve negatifliği % 50 (21/42) oranıyla eşit bir dağılımda bulundu (Tablo 18). EBV pozitifliği ve negatifliği ile nükleol belirginliğinin varlığı ve dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ).

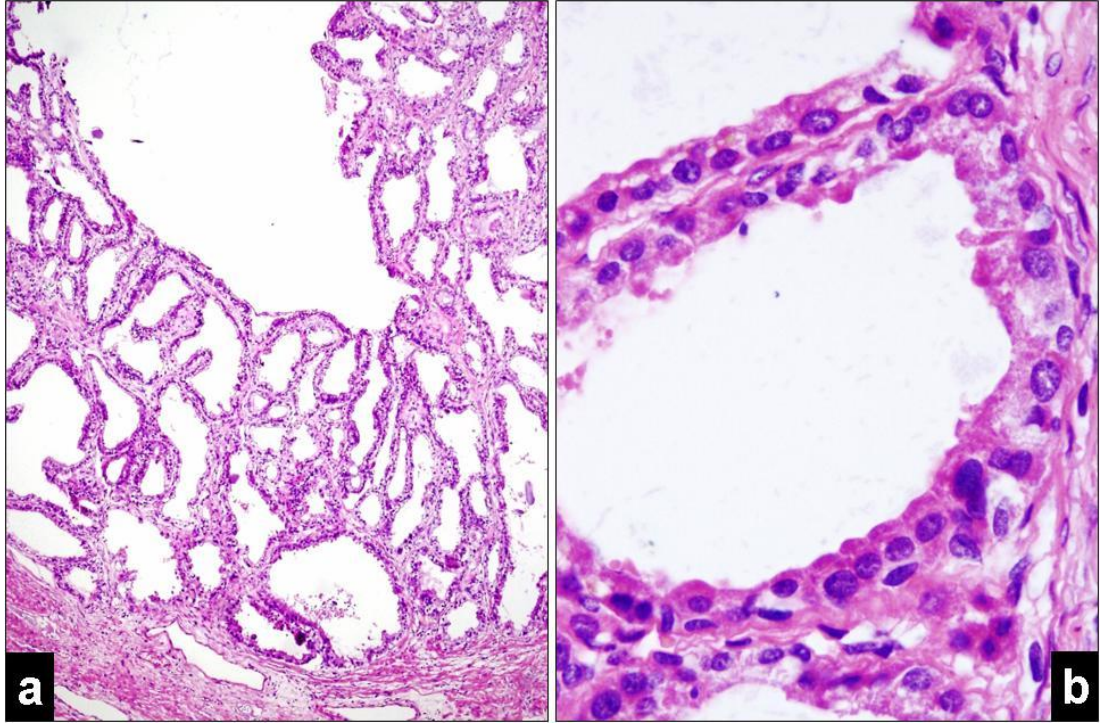
Nükleol belirginliği olmayan 18 olguda BKV pozitifliği, % 27.8 (5/18), SV40 pozitifliği % 33.3 (6/18) bulundu. Nükleol belirginliği olan 42 olguda ise BKV pozitifliği % 23.8 (10/42) ve SV40 pozitifliği % 35.7 (15/42) bulundu (Tablo 18). BKV ve SV40 pozitifliği ve dağılımıyla nükleol belirginliği varlığı ve dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Nükleol belirginliği olmayan olgularda HSV-2 pozitifliği % 16.7 (3/18) bulundu. Nükleol belirginliği olan 42 olguda ise HSV-2 pozitifliği % 19.1 (8/42) bulundu (Tablo 18). HSV-2 varlığı ile nükleol belirginliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0.05$ ), (Tablo 18).

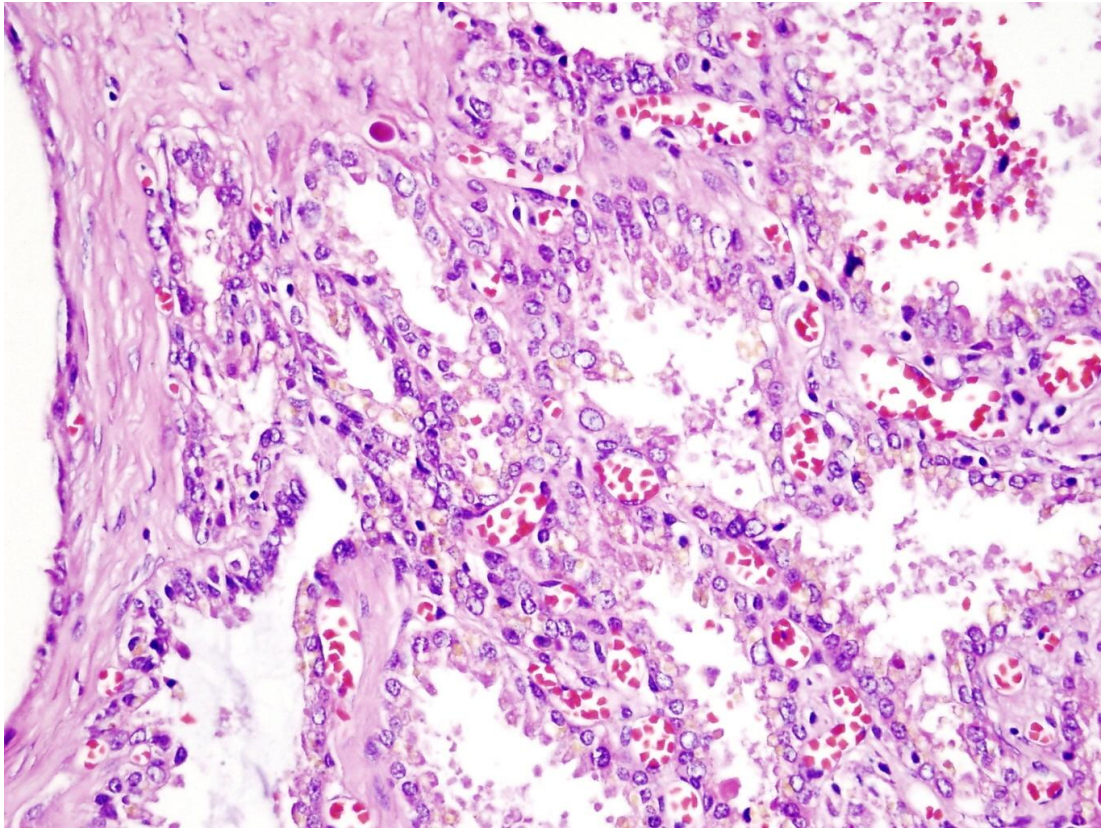
**Tablo 18:**Nükleol belirginliğinin virüslerle ilişkisi

Nükleol	EBV		BKV		SV40		HSV-2	
	<i>Yok</i>	<i>Var</i>	<i>Yok</i>	<i>Var</i>	<i>Yok</i>	<i>Var</i>	<i>Yok</i>	<i>Var</i>
<i>Yok</i>	8	10	13	5	12	6	15	3
<i>Var</i>	21	21	32	10	27	15	34	8
– <i>Hafif</i>	11	12	21	2	16	7	16	7
– <i>Orta</i>	8	7	8	7	10	5	14	1
– <i>şiddetli</i>	2	2	3	1	1	3	4	0

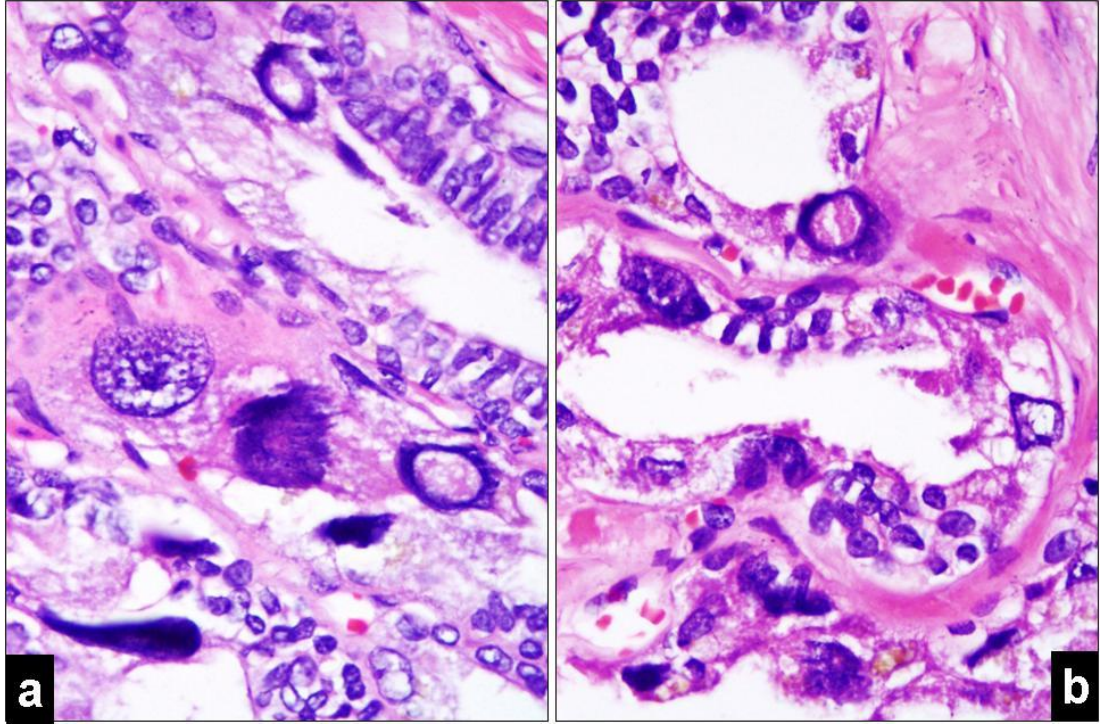
**EBV:** Epstein-Barr virüs, **BKV:** BK Virüs **SV40:** Simian virüs 40, **HSV-2:** Herpes simpleks virüs tip 2



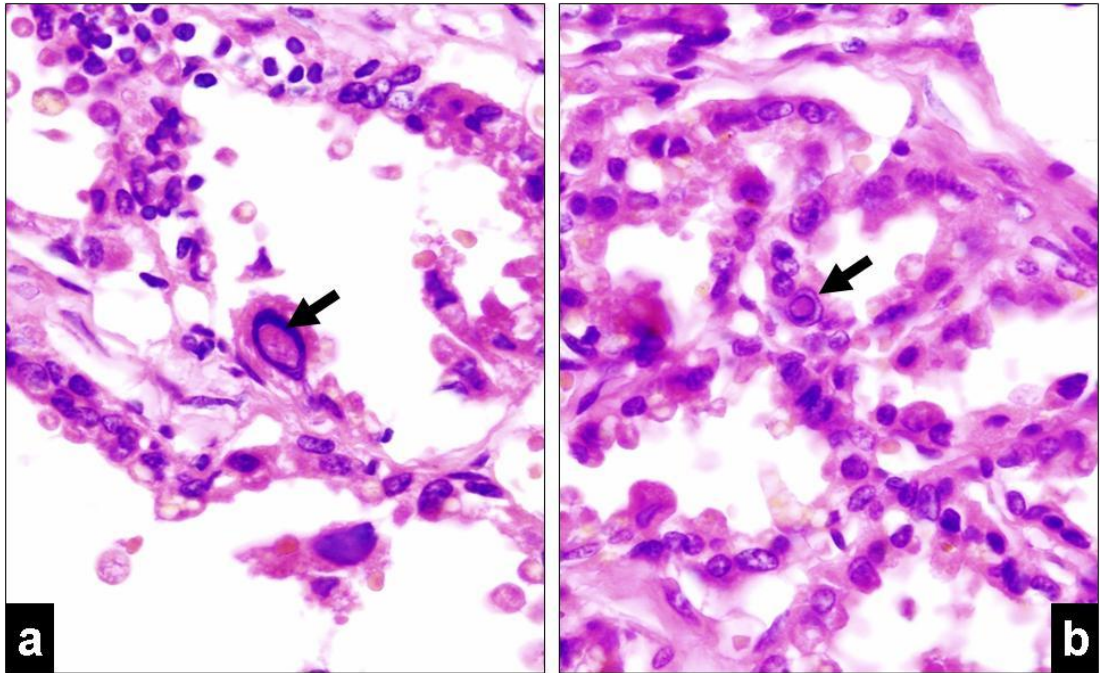
Şekil 10: VS'de normal histolojik görünüm (a. H&E x 100, b. H&E x 400).



Şekil 11: VS'de hafif epitelyal atipi (H&E x 200).



Şekil 12: VS'de şiddetli epitelyal atipi ( a, b: H&E x 1000).



Şekil 13: VS' de intranükleer inklüzyon (a, b: H&E x 1000).

## **5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Bulguları**

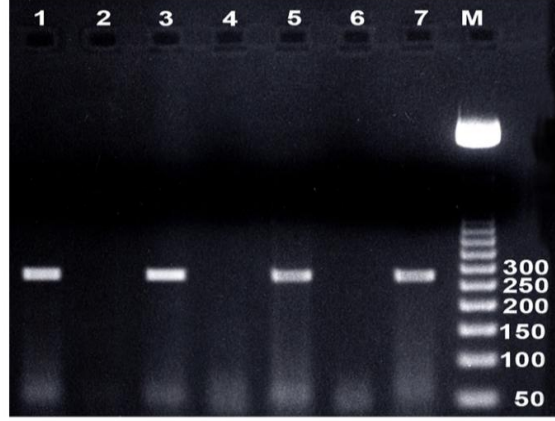
### **5.2.1. HSV-1 ve HSV-2 Virüslerinin Üretilmesi**

Adsorpsiyona bağlı metotla MDBK hücrelerine ekilen HSV-1 ve HSV-2 virüslerinin hücreye etkileri mikroskopik olarak takip edildi. Mikroskopik bakıda, virüs ekilmeyen kontrol MDBK hücreleriyle karşılaştırıldığında, özellikle HSV-1 enfekte hücrelerde, ekimden yaklaşık 24 saat sonra hücre şişmeleri ile karakterize ilk sitopatik etki (CPE) odakları görülmeye başladı. HSV-2 enfekte hücrelerde ise aynı CPE odakları ekimden yaklaşık 36 saat sonra görülmeye başladı. Bu CPE odaklarının yine HSV-1 enfekte hücrelerde ekimden yaklaşık 48 saat sonra parçalanmaya başladıkları tespit edildi. HSV-2 enfekte hücrelerdeyse infeksiyondan yaklaşık 60 saat sonra hücre parçalanmaları tespit edildi.

### **5.2.2. $\beta$ -Globin Spesifik PZR Sonuçları**

Çalışmaya alınan bütün olgulardan DNA izolasyon kitiyle üretici firmanın önerileri doğrultusunda DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, DNA izolasyonunun ve PZR yönteminin kontrolü amacıyla, elde edilen total DNA'ların miktarları, önce spektrofotometrede OD280/OD260'da ölçüldü. Daha sonra ise elde edilen DNA'ların 10 kat sulandırılması DNase ve RNase'dan arındırılmış deiyonize su kullanılarak gerçekleştirilmiş ve her bir sulandırma ve  $\beta$ -globin primerleriyle PZR cihazında çalışılmıştır. Bu uygulamalar sonucunda, yöntemin saptama eşiği yaklaşık 10 Hücresel DNA olarak tespit edilmiştir.

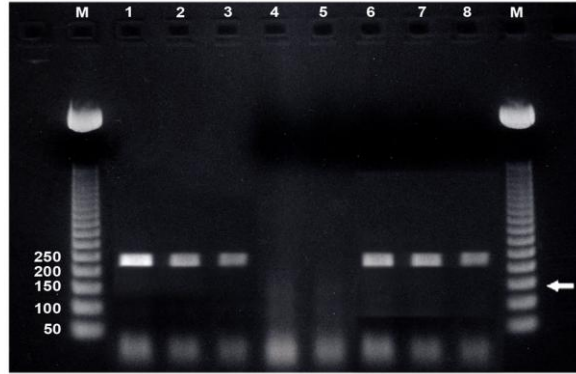
S-GH20 ve S-PCO4 primerleri kullanılarak yapılan  $\beta$ -globin PZR' sonucunda bütün olgular pozitif olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler, parafin blok içindeki doku olgularından DNA izolasyonunda seçilen ekstraksiyon yönteminin etkinlik ve güvenilirliğini gösteren değerlerdir. Olguların %2'lik agaroz jel elektroforezi sonucunda beklenildiği gibi 268 bp'lik bant profilleri elde edilmiştir.  $\beta$ -globin pozitif PZR ürünlerinin jel görüntüsü şekil 14'de gösterilmiştir.



**Şekil 14:**  $\beta$ -globin pozitif PZR ürünleri (268 bç): (M: 50 bç'lik DNA markeri, 1, 3, 5, 7:  $\beta$ -globin+ olgular, 2,4: DNA izolasyonu negatif kontroller, 6: PZR negatif kontrol).

### 5.2.3. EBV ve HSV-2 Virüsleri İçin Spesifik PZR Sonuçları

EBV için, gp220 gen bölgesine spesifik olan primerler kullanılarak yapılan PZR sonucunda beklenildiği gibi yaklaşık 239 bç'lik bant profilleri %2'lik agaroz jel elektroforezi sonucunda elde edildi. Olguların % 51.7' si (31/60) EBV için pozitif bulundu. EBV DNA yönünden pozitif olan bazı olgular ve negatif kontrollerin PZR ürünlerinin jel görüntüsü şekil 15'te gösterilmiştir.

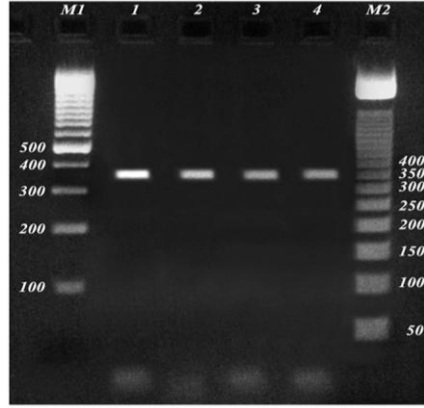


**Şekil 15:** EBV pozitif ve negatif PZR ürünleri (239 bç):(M: 50 bç'lik DNA markeri, 1: EBV için pozitif kontrol-EBV DNA'sından elde edilen PZR ürünü, 2,3,6,7,8: EBV yönünden pozitif olgular, 4: PZR negatif kontrol, 5: DNA izolasyonu negatif kontrol)

HSV-2 için ise özel bir primer dizayn programıyla elde edilen gpC gen bölgesine spesifik olan primerler kullanılarak yapılan PZR sonucunda, HSV-2 333 virüs şuşunda ve pozitif olgularda beklenildiği gibi 354 bç'lik bantlar, olguların %2'lik agaroz jel elektroforezde göç ettirilmesinden belirlenmiştir. Olgularda % 18.3



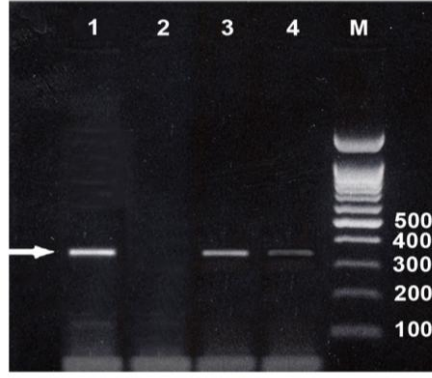
(11/60) BKV pozitifliği saptandı. Elektroforez sonrası pozitif olgular ve negatif kontrollere ait olan bant profilleri şekil 16'da yer almaktadır.



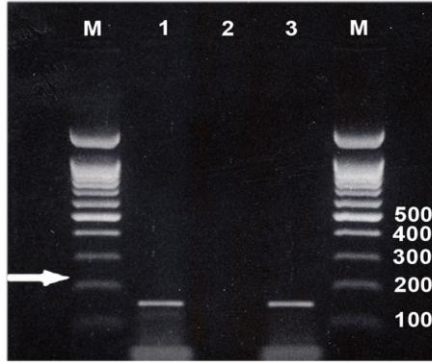
**Şekil 16:** HSV-2 pozitif PZR ürünleri (354 bç):(M1: 100 bç'lik DNA markeri, 1: HSV-2 için pozitif kontrol-HSV-2 virüs DNA'sından elde edilen PZR ürünü, 2,3,4: HSV-2 yönünden pozitif olgular, M2: 50 bç'lik DNA markeri)

#### 5.2.5-4. BKV ve SV40 Virüsleri İçin Spesifik PZR Sonuçları

Polyoma virüs ailesinden olan BKV ve SV40 virüslerini belirleyebilmek için nested PZR yöntemi kullanılmıştır. Bu amaç için kullanılan primerler (Şekil 9) Fedele ve arkadaşlarının (118) yaptıkları çalışmadan seçilmiştir. Bu primerler, Polyomavirüs genomu üzerinde bulunan large-T antijenine ait gen bölgesine spesifik olup, BKV ve SV40 virüsleri için oldukça yüksek bir homoloji ve korunmuşluk gösteren bölgeyi çoğaltabilmektedir. Ayrıca bu gen bölgesi hem polyomavirüsler için primer dizayn etmede kabul gören uzlaşmış bir bölgedir hem de karsinogenezle ilişkili olduğu bilinmektedir. Nested PZR'nin birinci aşamasında dışsal primerler (PM1+/ PM1-) kullanılırken, ikinci aşamada ise polyomavirüs (BKV, SV40) ler için ayırıcı olan içsel primerler (PM2-P3, BKV-P4 ve SV40-P5) kullanılmıştır. Nested PZR aşamasından sonra yapılan agaroz jel elektroforez işleminin sonucunda ise beklenildiği gibi BKV için 353 bç ve SV40 için ise 135 bç'lik bant profilleri elde edilmiştir. Olgularda % 25 (15/60) BKV ve % 35 (21/60) SV40 pozitifliği saptandı (Şekil 17 ve 18).



**Şekil 17:** BKV için pozitif ve negatif PZR ürünleri (353 bç):(M: 100 bç'lik DNA markeri, 1,3,4: BKV yönünden pozitif olgular, 2: PZR negatif kontrol)



**Şekil 18:** SV40 için pozitif ve negatif PZR ürünleri (135 bç):(M: 100 bç'lik DNA markeri, 1,3: SV40 yönünden pozitif olgular, 2: PZR negatif kontrol)

## 6. TARTIŞMA

İlk kez 1958’ de Arias-Stella (53) tarafından VS epitel hücrelerinde gelişen atipik değişiklikler tanımlanmıştır. Dördüncü dekattan başlayıp yaşla birlikte ilerlediği öne sürülen, 20 yaş altında genellikle saptanmayan, nükleer büyüme, düzensizlik, pleomorfizm ve hiperkromazi gibi bazen malign bir durumdaki kadar bizar nükleer değişiklikler görülebilmektedir. Spesifik bir sistemik hastalığı olmayan 32 olguluk bir seride, Kuo ve arkadaşlarınca (2) yapılan bir çalışmada, incelenen VS olgularının % 75’ inde (24/32) bu psödomalign değişiklikler gösterilmiştir. Bu olguların da 14’ ünde eşlik eden bir kanser bulunurken, 10’ unda ise herhangi bir kanser bulunmamaktadır. Habanec ve arkadaşlarının (3), yaş ortalaması 3.1 olan (6 saat-10yaş) 6 olguluk bir çocuk grubu ve yaş ortalaması 68.4 olan (42-91 yaş) 34 olguluk bir yetişkin grubunun yer aldığı bir otopsi serisinde VS’ leri inceledikleri başka bir çalışmada, bu psödomalign epitelyal değişiklikler çocuk grubunda görülmemiş, ancak yetişkinlerde % 73.5 oranında (25/34) görülmüştür. Benzer değişiklikler aynı grubun epididim ve efferent duktuslarında da % 76.4 oranında gözlemlenmiştir.

Bu epitelyal psödomalign değişikliklerin oluşumunun, hormonal durumda değişiklikler başta olmak üzere yaşlanmaya bağlı dejeneratif değişikliklerin bir sonucu olduğu ileri sürülmüştür. Mantovani ve arkadaşları (4) tarafından bu değişikliklerin gonadotropinlerin salınmasında bir kararsızlık ve testosteronun böbreküstü bezinden salınımı ve periferik kullanımının azalmasına bağlı olduğu ileri sürülmüşse de bunun mekanizması açıklanmamıştır.

Yaşları 2-88 arasında değişen 80 olguluk bir otopsi serisinde yaptıkları bir çalışmada Karoly ve arkadaşları (54), VS olgularını ışık mikroskopunda incelemişler ve daha sonra bu gruptan rastgele seçilen, 42-82 arası yaşlarda 10 olguya Feulgen’ s sitofotometrik analizi yapmışlar. Tüm olgularda hiperkromatik, büyük nükleuslu hücreler görülmüştür. Hiçbir olguda malign tümörler için karakteristik olan anöplid atipi bulunmamıştır. Tüm olgularda, kimi hormonların hedef organlarında görülebilen hormonal displazilerde olduğu gibi öplid poliploid bir atipinin varlığını göstermişlerdir. Sonuçta VS epitelindeki atipinin yaşlanmayla gelişen involusyonel dejeneratif bir değişiklik olduğu iddiasına katılmadıklarını bildirmişlerdir.

Nonneoplastik VS epitelindeki bu nükleer büyüme ve düzensizliklerin, hücrelerin anormal DNA içeriği üzerinden akım sitometrisi ile de açıklanmasına çalışılmıştır. Lösemiler dışında hücresel DNA içeriğindeki anöplidin, malignensinin

oldukça objektif ve kantitatif bir göstergesi olduğu görüşü, birçok çalışmayla reddedilmiştir. Ortalama yaşı 69 olan (58-75) 15 hastaya ait 30 nonneoplastik VS örneğini kapsayan çalışmalarında Arber ve arkadaşları (57), olguların % 93.3'ünde (28/30) diploid histogram, % 6.7'inde ise (2/30) anöploid histogram saptamışlardır. Benzer şekilde, uterusda da, benign sekretuar epitelde % 3, benign proliferatif epitelde % 7 oranında anöploidi bulunduğu gösterilmiş ve yalnızca anöploidi üzerinden malignensiye karar vermenin yanıltıcı olacağı ortaya konmuştur (57).

Bizim çalışmamızdaki olgular 40 yaşın altında olgular içermiyor olmakla birlikte, mevcut orta ve ileri yaş grupları arasında da, yaşlanmayla artan bir atipi yargısıyla uyumlu bir ilişki görülmemektedir. Bilakis atipisiz olguların % 81.8' i ileri yaş grubunda bulunmaktadır. Üstelik atipili olguların ise % 57 gibi bir çoğunluğu orta yaş grubundadır. Bulgularımız ilerleyen yaşla birlikte artan bir epitelyal atipi iddiasını desteklememektedir. Karoly ve arkadaşlarının, yaşlanmaya bağlı involüsyonel dejeneratif bir değişiklik iddiasını reddeden sonuçlarıyla daha uyumlu görünmektedir.

VS epitelindeki atipik değişiklikleri açıklamaya çalışan bu yaklaşımlar henüz tartışmalı gözükmemektedir. Hormonal etkinin mekanizması açık değildir ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif değişiklikler açıklaması da, belki yeni çalışmalar yapıldıkça, atipinin varlığı daha genç yaşlara doğru kaydııkça, geçerliliğini kaybedecektir.

Buradan hareketle VS epitelindeki bu atipinin ortaya çıkmasına neden olabilecek başka etkenler aranabilir. Özellikle insanlarda primer infeksiyon sonrası çeşitli organ ve dokularda sıklıkla latent kalıp reaktivasyonlar yapabilen infeksiyöz ajanlardan olan virüsler irdelenebilir. Literatürde VS epitelindeki atipide virüslerin rolünü açıklamaya odaklanmış çalışma bulunmamaktadır. Üstelik virüslerin hücrel transformasyonda ve giderek neoplastik transformasyondaki etkilerine dair bulgular ve araştırmalar, moleküler yöntemlerin tanıda kullanımının yaygınlaşmasına paralel olarak hızla çoğalmaktadır.

Çok basamaklı bir süreç olan neoplastik transformasyon ve onkogeneze başta virüsler olmak üzere infeksiyöz ajanların anahtar rol oynadığına dair son yıllarda giderek artan kanıtlar mevcuttur. Bugün için küresel ölçekte tüm kanserlerin yaklaşık % 15-30' unun infeksiyöz etkenlerle bağlantılı olduğu kabul edilmektedir. Bu infeksiyöz etkenler içinde ilk sırada yer alan virüsler, onkogenetik sürecin farklı noktalarında işe karışmakta ve belirli bir maligniteyle belirli bir virüsün ilişkisi % 15'lerden % 100' lere dek çıkabilmektedir (109-111).

Onkogenez, ölümcül olmayan genetik hasarların birikmesi sonucu, çok basamaklı bir süreç şeklinde gelişir. Genetik hasarın hedefi olan normal düzenleyici gen aileleri; protoonkogenler, antionkogenler, apoptozla ilgili genler ve DNA hasarı onarım genleridir. Bu gen aileleri, onkogenezde suçlanan etkenlerin hedefi olmaktadır (108-110).

Normal bir hücreden transforme hücreye ulaşılmasında, bu gen ailelerinde, oluşmasında virüslerin de suçlandığı, bir kısmı kalıtsal olan bazı mutasyonlar ortaya çıkar. Bütün bu süreçte, çevresel ve genetik kofaktörler eşliğinde, özellikle ilk enfeksiyon sonrası konak hücresinde latent kalma yeteneği olan virüsler, çeşitli nedenlerle reaktive olarak onkogenezin bir ya da birkaç basamağında etkili olabilmektedir (111).

Bugün için virüslerin kanserlerle nedensellik anlamında ilişkisi kesinlik kazanmamıştır. Ancak belli kanser tipleriyle, belli virüslerin yaygın ve yüksek sıklıkta birlikteliği söz konusudur. Bu bağlamda onkojenik DNA virüsleri öne çıkmaktadır. Bunlardan çalışmamızda yer alan EBV, BL olgularında, solid bir organ tümörüyle ilişkili olarak açıklanan ilk virüsdür. Toplumun % 90' dan fazlasında, primer enfeksiyon sonrası EBV, B lenfositlerde latent kalmaktadır. Virüs lenfoid ve epitelyal hücrelere belirgin bir tropizm göstermektedir. Çok sayıda çalışmada, BL, NFK, HL, gastrik karsinomlar ve çeşitli lenfoproliferatif bozukluklarda, konağın immün durumu ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişen oranlarda EBV DNA' sı ve LMP, EBNA ve EBERs grubu viral onkoproteinler saptanmaktadır (109-111,119-121).

EBV' nin VS epitel atipisinde saptanmasına odaklı bir çalışma yoktur. Ancak onun ürolojik malignitelerdeki prevalansı ve rolüne dair çalışmalar bulunmaktadır. Gazzaniga ve arkadaşlarının (119) PZR' la yaptığı, ortalama yaşı 67 olan, mesane ürotelyal karsinomlu 35 olguluk kontrollü bir çalışmada, bir grup DNA virüsünün prevalansı araştırılmış ve % 34' lük (12/35) bir oranla EBV varlığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada % 20 oranında (7/35) birden fazla virüsün birlikte pozitifliği dikkati çekmiştir ve bunların 5' inde virüslerden birisi EBV' dir. Ancak EBV pozitifliğinin, tümör hücrelerinde mi, infiltrasyon yapan infekte B lenfositlerinde mi olduğunun ayırımına gidilmemiştir.

Bu eleştiriyle beraber Chuang ve arkadaşlarınca (123) in situ hibridizasyonla EBERs ve IHK ile LMP-1 aranarak yapılan ürotelyal karsinomlu 100 olguluk bir çalışmada % 31 (31/100) EBERs saptanmıştır. Bu 31 olgunun ancak % 84' ünde (26/31) LMP-1' le pozitiflik gösterilmiş ve EBERs daha sensitif bulunmuştur. Bu 31

pozitif olgudan 21 tanesi hem tümör hücrelerinde hem de infiltre eden B lenfositlerinde, yedi tanesi sadece B lenfositlerinde ve üç tanesi ise sadece tümör hücrelerinde pozitiflik göstermiştir. Sonuçta primer ürotelyal karsinomların önemli bir kısmıyla EBV enfeksiyonu arasında güçlü bir ilişki olduğu vurgulanmıştır. Yine bu ilişkinin ürotelyal hücrelerin malign transformasyonunu başlatıcı olmaktan çok diğer çevresel kofaktörlerin varlığında devreye girerek tümör ilerlemesine katkı sağlayan bir etki olabileceği vurgulanmıştır.

Abe ve arkadaşlarınca (124) in situ hibridizasyonla EBERs varlığının tesbitine dayalı olarak yapılan, yine mesane karsinomlu 39 olguluk başka bir kontrollü çalışmada, % 66.7 (26/39) oranında tümör stromasında EBERs eksprese eden EBV ile infekte lenfosit infiltrasyonu saptanırken tümör hücrelerinde EBV pozitifliği sadece iki olguda görülmüştür. Bu çalışmada ileri evre tümörlerde EBV pozitif lenfosit infiltrasyonunun sıklığı erken evredekilere göre anlamlı oranda yüksek bulunurken, tümörün derecesiyle EBV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı gösterilmiştir. EBV pozitif lenfositlerin buradaki erken karsinogenezde önemli bir etkisinin olmadığı ancak tümör ilerlemesinde önemli bir rolü olabileceği belirtilmiştir.

Çalışmamızda saptadığımız 31 olgudaki EBV pozitifliğinin %67,7'si eşlik eden karsinomu olan olgularda bulundu ( $p=0,02$ ). EBV pozitif 31 örneğin atipili ve atipisiz olgular arasındaki dağılımı ise birbirine yakın olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark içermemektedir ( $p>0.05$ ). Çalışmamızda yer alan VS olgularında histopatolojik incelemede lenfosit infiltrasyonu bulunmadığından EBV pozitiflikleri, VS epitel hücrelerine ait bir pozitifliği yansıtmaktadır. Ancak bizim çalışmamızda virüs varlığı PZR ile arandığından bunun kesin ayırımına gidilemedi. İHK veya FISH yöntemi ile yapılacak bir çalışmada, bu pozitifliklerin atipik epitel hücrelerine ait olup olmadığı ayırddedilebilir.

BKV ve SV40, küçük, zarfsız, sirküler, çift sarmal DNA içeren, ikozahedral kapsidlere sahip, aralarında % 70 DNA homolojisi bulunan human polyoma virüslerinden ikisidir. Toplumun % 75-80' i, ilk iki dekatta geçirilen subklinik enfeksiyon sonrası BKV ile infektidir. Primer enfeksiyon sonrası lenfositlerde, üriner sistemde ve başlıca böbreklerde latent kalmakta, konağın bağışıklığının baskılandığı çeşitli durumlarda reaktifte olmaktadır. PZR tekniğiyle, BKV DNA sekansları, beyin, mesane, prostat, pankreas adacık hücre tümörleri, kaposi sarkomu gibi çeşitli insan tü-

mörlerinde sıklıkla saptanmakta ve bu tümörlerin gelişiminde potansiyel bir etken ya da kofaktör olarak suçlanmaktadır (109-111,125-127).

SV40 ise maymun sarkom virüsüdür. 1955-1963 yılları arasında SV40' la kontamine polio aşılarının dağıtılmasıyla milyonlarca insan infekte edilmiştir. SV40, mezotelyoma, osteosarkom, NHL, ependimoma, tiroid ve parotis bezi tümörleri gibi çeşitli insan tümörlerinde, PZR' la değişik oranlarda pozitif bulunmuştur. SV40, özellikle konak immünesinin baskılandığı durumlarda BKV' le birlikte böbrek ve beyin biyopsilerinde saptanmaktadır (109-111,127-131).

VS epitelindeki atipide BKV ve SV40' ın rolünü araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Böbrek mesane ve prostat karsinomlarıyla ilişkisine dair çalışmalar yapılmıştır. Li ve arkadaşlarınca(130), 91 böbrek alıcısı içinden seçtikleri polyomavirüs nefropatisi gelişmiş 6 olguda, PZR'la BKV, SV40 ve JCV' nin rolünün araştırıldığı bir çalışmada, olguların hiçbirinde JCV saptanmazken BKV ve SV40 birlikte ve % 50 oranında saptanmıştır. Sonuçta böbrek alıcılarında polyomavirüs nefropatisi gelişiminde SV40' ın BKV ile koinfeksiyonunun önemli bir katkısının olabileceği belirtilmiştir.

Fioriti ve arkadaşlarınca (131), primer mesane tümörüyle, BKV'nin de içinde yer aldığı bir grup DNA virüsünün ilişkisinin PZR'la araştırıldığı 32 olguluk kontrol-lü bir çalışma yapılmıştır. Sonuçta BKV, tek başına ve diğer virüslerle koinfeksiyon halinde tümör olgularında istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuş ve mesane karsinomunun patogeneğinde önemli bir kofaktör olabileceği belirtilmiştir.

Lau ve arkadaşlarınca (132), prostatik karsinomlu 30 olguluk bir seride, in situ hibridizasyonla, BKV DNA sekanslarının ve İHK ile TAg'nin saptanması üzerinde yapılan bir çalışmada, BKV DNA'sı %7 oranında bulunmuş, TAg ekspresyonu ise hiçbir olguda görülmemiş ve sonuçta BKV infeksiyonuyla prostat karsinomu gelişimi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı öne sürülmüştür.

Weinreb ve arkadaşları (133) tarafından idrar sitolojisi incelenmiş 3782 olguluk bir gruptan seçilen polyoma virüs infeksiyonlu immünkompetan 133 hastanın daha sonraki takiplerinde ürogenital tümör gelişiminin polyoma virüs infeksiyonuyla ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada mesane karsinomu %15,8 ve prostat karsinomu %3,8 oranlarında bulunmuştur. Sonuçta polyoma virüs infeksiyonuyla mesane karsinomu gelişimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirtilmiştir.

Balis ve arkadaşları (134) tarafından prostat tümörigeneğinde BKV, JCV ve HPV'nin rolünü araştırmak için PZR'la yapılan 42 prostat malignitesini içeren bir

çalışmada, polyoma virüs prevalansı %19 bulunmuş ve pozitif olguların tümünün BKV olduğu doğrulanmıştır. BKV'nin prostat kanserinin gelişmesi ve ilerlemesinde anahtar bir rol oynayabileceği vurgulanmıştır.

BKV'nin mesane kanserlerinin gelişimindeki rolünü araştırmak amacıyla 76 mesane ürotelyal karsinom olgusundan alınan taze dondurulmuş doku olgularının kantitatif real time PZR (QPZR)'la araştırıldığı kontrollü bir çalışmada olgu grubunda dört, kontrol grubunda ise iki olguda BKV DNA saptanmış, sonuçta çoğu mesane ürotelyal karsinomunun etyolojisinde BKV'nin rolünün bulunmadığı öne sürülmüştür (135).

Narayanan ve arkadaşlarının (136) sunduğu allograft bir böbrekten kaynaklanan renal hücreli karsinom olgusunda tümörde ve metastazında BKV DNA sekansları saptanırken HSV-1, HSV-2, CMV, EBV ve varicella zoster virüsü saptanmamış ve bu durum böbrek ile üriner sistem kanserlerinde BKV'nin rolüne dair bir kanıt olarak belirtilmiştir.

Bravo ve arkadaşları (137) tarafından, HSV-2 ve SV40' a karşı oluşan antikor varlığının ELISA ile araştırıldığı mesane kanserli 233 olguluk bir seride yapılan kontrollü bir çalışmada, mesane kanseri ve SV40 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuş, HSV-2 ile mesane kanseri arasında ise anlamlı bir ilişki olmadığı belirtilmiştir.

BKV ve SV40' ın tümör etyolojisindeki rolüne dair çalışmalar birbiriyle çelişen sonuçlar ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamızda, %25 (15/60) BKV pozitifliği saptandı. BKV pozitifliklerinin orta ve ileri yaş grubuna dağılımı ve eşlik eden karsinomu olan ve olmayan olgulara dağılımı birbirine yakındır ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan anlam taşımamaktadır ( $p>0.05$ ). BKV pozitiflikleri daha çok (% 23.3) atipili grupta görülmekle birlikte, atipisiz grupla arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Çalışmamızda %35 (21/60) oranında bulunan SV40 pozitifliğinin orta ve ileri yaştaki olgular ve eşlik eden karsinomu olan ve olmayan olgular arasındaki dağılımı birbirine yakın oranda bulundu. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). SV40 pozitifliği de atipili olgularda daha fazla (% 26.7) olmakla birlikte, istatistiksel olarak atipisiz grupla arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).

Herpes virüs ailesinin alfa herpes virüs alt ailesi içinde yer alan HSV-2 büyük ve zarflı bir virüstür. Çift zincir DNA genomuna sahiptir ve yaklaşık 70 polipeptidi



kodlar (14,108-111). Primer HSV infeksiyonları genellikle ağır seyretmez, bir kısmı asemptomatiktir. Sistemik infeksiyon gelişimi çok nadirdir. HSV-2 sakral ganglionlarda latent olarak kalmaktadır (107). HSV-2, servikal kanserlerle ilişkilidir ve perinatal infeksiyonlarda yüksek sıklıktadır. HSV-2 testislerde, prostatta ve semen olgularında da saptanmaktadır (14).

De Ture (138) ve arkadaşlarının yaptığı 10 otopsi olgusunu içeren bir çalışmada, % 40 oranında testis ve VS' de ilk olarak HSV-2 izole edilmiştir. Öncü bir lezyon olmaksızın erkek genital sisteminin bu virüsün transmisyonu için bir kaynak oluşturabileceği öne sürülmüştür (14). Centifanto (139) ve arkadaşlarının yaptığı genital herpes infeksiyonu olmayan rastgele seçilmiş 190 olguluk başka bir çalışmada da genitouriner olgularda yüksek HSV-2 varlığı ortaya konmuştur.

HSV-2' nin VS epitelinde görülen atipinin gelişmesindeki rolüne dair yapılmış bir çalışma ise bulunmamaktadır. Ancak serviks kanseri gelişimindeki etkisi birçok çalışmanın konusudur. Ayrıca prostat ve mesane karsinomlarındaki rolünün araştırıldığı, sonuçları birbiriyle çelişen çalışmalar bulunmaktadır. Lüleci ve arkadaşları (140) yapılan mesane, prostat ve serviks kanserli toplam 68 olguluk kontrollü bir çalışmada serumda HSV-2'ye karşı nötralizan antikörlerin varlığı, kontrol grubunda %62,8 oranındayken mesane kanserli olgularda %90,7, prostat kanserli olgularda %87,5 ve serviks kanserli olgularda %88,9 olarak bulunmuştur.

Haid ve arkadaşları (141) tarafından 27 prostat karsinomu ve 33 nodüler hiperplazi spesmeninde HSV-2 antijenlerinin indirekt immünfloresan boyamayla saptanmasına yönelik yapılan bir çalışmada, prostat karsinomunda % 25,9, nodüler hiperplazide % 24,2 oranında pozitif boyanma saptanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışmada HSV-2'nin muhtemelen prostat karsinomuyla nedensel bir ilişkisi olmadığı belirtilmiştir.

Gazzaniga ve arkadaşlarının (122) yukarıda değinilen çalışmasında HSV-2 sıklığı % 9 olarak, çalışılan diğer virüslere göre en düşük düzeyde bulunmuş ve yine yukarıda değinilen Bravo ve arkadaşlarının (137) çalışmasında mesane karsinomlarıyla HSV-2 arasında anlamlı bir ilişki olmadığı, ürotelyal malignitelerde nedensel olmaktan çok, diğer virüslerin varlığında sinerjistik bir etkiyle kofaktör olabileceği belirtilmiştir.

Bergh ve arkadaşları (142) nodüler hiperplazi tanısı almış ve daha sonra prostat kanseri gelişen 201 olguluk bir seride PZR'la yapılan kontrollü bir çalışmada %8,8 EBV, %2,8 JCV pozitifliği saptanırken HSV-1, HSV-2, CMV, BKV ve HPV

saptanmamıştır. HSV-2'nin nodüler hiperplazi sonrası gelişen prostat karsinomuyla ilişkisi bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaku ve arkadaşlarının (143) 100 ürotelyal karsinom olgusunu içeren İHK ve PZR'la yaptıkları kontrollü bir çalışmada tip ayırımı yapılmaksızın %39 oranında HSV pozitifliği saptanırken kontrol grubunda bu oran %0,5'tir. Sonuçta ürotelyal karsinomla HSV pozitifliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki ortaya konmuştur.

HSV-2' nin de mesane ve prostat karsinogenezindeki rolüne dair çalışmalar birbiriyle çelişen sonuçlar ortaya koymaktadır. VS odaklı bir HSV-2 çalışması ise yoktur. Bizim çalışmamızda HSV-2 pozitifliği %18,3 (11/60) oranında bulundu. HSV-2 pozitifliklerinin orta ve ileri yaş gruplarına ve eşlik eden karsinomu olan ve olmayan olgulara dağılımı birbirine yakındı ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). HSV-2 pozitifliği atipili olgularda daha yüksek oranda (% 15) bulunmakla beraber aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ).

#### **Sonuç olarak çalışmamızda;**

Viral sitopatik etki olabileceğini düşündüğümüz intranükleer inklüzyon varlığının, çalışılan virüslere, orta ve ileri yaştaki olgulara, eşlik eden bir karsinomu olan ve olmayan olgulara ve atipili ve atipisiz olgulara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu.

Nükleer pleomorfizm ve nükleol belirginliğinin varlığı ve şiddetinin, orta ve ileri yaştaki olgular ve eşlik eden karsinomu olan ve olmayan olgulara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Ancak birer komponenti oldukları atipiye sahip olgularda, bekleneceği gibi atipisiz olgulara göre fark istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek bulundu.

Çalışmamızda yer alan virüslerden EBV' nin, atipili ve atipisiz olgular ve orta ve ileri yaştaki olgulara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Ancak eşlik eden karsinomu olan olgularda eşlik eden karsinomu olmayan olgulara göre EBV varlığını istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulduk.

BKV, SV40 ve HSV-2' nin orta ve ileri yaştaki olgular ve eşlik eden karsinomu olan ve olmayan olgulara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını saptadık. Bu üç virüsün atipili ve atipisiz olgulardaki varlığını ise istatistiksel olarak anlamlı bir değere ulaşmamakla birlikte atipili olgularda daha yüksek bulduk.

Aynı olguda birden fazla virüsün birlikte varlığının, eşlik eden karsinomu olanlarda, eşlik eden karsinomu olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek bulduk ( $p=0.02$ ).

Eşlik eden karsinomu bulunan olguları, istatistiksel olarak anlamlı oranda ileri yaş grubunda daha yüksek bulduk ( $p=0.009$ ).

Atipi varlığının eşlik eden karsinomu olan ve olmayan olgulara dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık. Ancak bizim çalışmamızın sonuçları, yaş ilerlemesiyle atipinin varlığı ve şiddetinin arttığı görüşüyle örtüşmemektedir. Aksine orta yaş grubunda atipiyi istatistiksel olarak anlamlı oranda ileri yaş grubundan daha yüksek bulduk. Üstelik atipisiz olguları istatistiksel olarak anlamlı bir oranda ileri yaş grubunda daha yüksek bulduk.

## 7. KAYNAKLAR

1. Bostwick DG. Seminal vesicles. In: Urologic surgical pathology. 1st ed. Mosby-Year Book, St.Louis 1997;8: 424-433.
2. Kuo T, Gomez LG. Monstrous epithelial cells in human epididymis and seminal vesicles; a pseudomalign change. *Am J Surg Pathol* 1981;5:483-490.
3. Habanec B. Monstrous epithelium in the seminal vesicles and epididymis. *Cesk Pathol* 1984;2:73-78.
4. Mantovani F, Mastromani G, Colombo F, Canclini L, Fenice O. Anatomic-functional changes in prostate and seminal vesicles with aging. *Arch Ital Urol* 1993;65:477-482.
5. Gutmann EJ. Seminal vesicle cells in a spontaneously voided urine. *Diagnostic Cytopathology* 2006;34:824-825.
6. Meisels A, Ayotte D. Cells from the seminal vesicles; contaminants of the V-C-E smear. *Acta Cytol* 1976;20:211-219.
7. Orrel SR. Male genital tract. In: Gray W, McKee GT (eds). *Diagnostic cytopathology*. 2nd ed. Boston. Churchill Livingstone. 2004;11:615-648.
8. Jensen CS, Cohen MB. *Ürinary Tract Cytopathology*. Atkinson BS (Editor). *Atlas of diagnostic cytopathology*. 2nd edition. Philadelphia, Elsevier/Saunders. 2004;6:231-271.
9. Koivuniemi A, Tyrkku J. Seminal vesicle epithelium in fine needle aspiration biopsies of the prostate as a pitfall in the cytologic diagnosis of carcinoma. *Acta Cytol* 1976;20:116-119.
10. Coyne JD, Kealy WF, Annis P. Seminal vesicleS epithelium in prostatic needle biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1987;40:932.
11. Raica M. Fine needle aspiration in seminal vesicle; aspects of normal seminal vesicle cells. *Rom J Morphol Embriyol* 1994;40:41-44.
12. Aumuller G. Lipopigment fine structure in human seminal vesicle and prostate gland epithelia. *Virchow Arch B Cell Pathol* 1977;24:79-85.
13. Amin MB, Bostwick DG. Pigment in prostatic epithelium and adenocarcinoma; a potential source of diagnostic confusion with seminal vesicular epithelium. *Mod Pathol* 1996;9:791-795.

14. Dejuçq N, Jegou B. Viruses in the mammalian male genital tract and their effects on the reproductive system. *Microbiol and Molecular Biol Reviews* 2001;65:208-231.
15. Boldorini R, Veggiani C, Barco D, Monga G. Kidney and urinary tract polyomavirus infection and distribution; molecular biology investigation of 10 consecutive autopsies. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:69-23.
16. Imperiale MJ. The human polyomaviruses, BK and JCV: Molecular pathogenesis of acute disease and potential role in cancer. *Virology* 2000;267:1-7.
17. Herawi M, Pervani AV, Chan T, Ali SZ, Epstein JI. Polyomavirus-associated cellular changes in the urine and bladder biopsy samples: A cytohistologic correlation. *Am J Surg Pathol* 2006;30:345-350.
18. Sadler TW. Langmann's medical embryology. *Başaklar C* (çev ed).6. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık. 1990:257-264.
19. Brewster SF. The development and differentiation of human seminal vesicles. *J Anat* 1985;143:45-55.
20. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*.3. Baskı. Güneş Kitabevi, Ankara. 2001;1:336-337.
21. <http://www.britannica.com>.
22. Clegg EJ. The arterial supply of the human prostate and seminal vesicles. *J Anat* 1955;89:209-211.
23. Sandlow JI, Williams RD. Surgery of the seminal vesicle. In: Walsh PC, Retick AB, Vaughan ED Jr, Wein AJ (Eds). *Campbell's Urology*. 8th Ed, WB Saunders, Philadelphia. 1998;4:3869-3885.
24. Gonzales GF. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. *Asian J Androl* 2001;3:251-258.
25. Aumuller G, Riva A. Morphology and functions of the seminal vesicle. *Andrologia* 1992; 24:183-196.
26. Curry PT, Atherton RW. Seminal vesicles; development, secretory product, and fertility. *Arch Androl* 1990;25:107-113.
27. Gonzales GF. Test for androgen activity at the male reproductive tract in infertile man. *Arch Androl* 1994;32:235-242.
28. Gonzales GF, Sanchez A. High sperm chromatin stability in semen with high viscosity. *Arch Androl* 1994;32:31-35.

29. Clavert A, Cranz C, Bollack C. Functions of seminal vesicles. *Andrologia* 1990;104:22:185-192.
30. Gonzales GF, Garcia-Hjarles MA, Gutierrez R, Guerra-Garcia R. The secretory activity of the seminal vesicles and its relationship to sperm motility; effects of infection in the male reproductive tract. *Int J Androl* 1989;12:286-294.
31. Gonzales GF, Kortebani G, Mazzolli AB. Hiperviscosity and hypofunction of the seminal vesicles. *Arch Androl* 1993;30:63-68.
32. Gonzales GF, Garcia-Hjarles M, Velazquez G, Coyotupa J. Seminal prolactin and its relationship to sperm motility in men. *Fertil Steril* 1989;51:498-503.
33. Gonzales GF. Functional structure and ultrastructure of seminal vesicles. *Arch Androl* 1989;22:1-13.
34. Gonzales GF, Garcia -Hjarles MA, Napuri R. Corrected seminal fructose levels: index of secretory activity of seminal vesicles. *Arch Androl* 1988;21:135-142.
35. Gonzales GF. Corrected seminal fructose tests. *Arch Androl* 1994;33:17-22.
36. Gonzales GF, Villena A. True corrected seminal fructose levels; a better marker of the function of seminal vesicles in infertile men. *Int J Androl* 2001;24:255-260.
37. Eroshencko VP. Erkek üreme sistemi. İçinde; Di Fiore Histoloji Atlası, Demir R (Çev. Ed.). 9. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara. 2001;15: 294-295.
38. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Aytakin Y (Çev. Ed.). Temel Histoloji. 7. Baskı, Barış Kitabevi/ Appleton Lange, İstanbul. 1993;22:496-516.
39. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W.(Edts). *Histology A Text and Atlas*. 4th edition. Lippincott Williams-Wilkins Company, Baltimore. 2003;21:682-725.
40. Riva A, Stockwell RA. A immunohistochemical study of human seminal vesicle epithelium. *J Anat* 1969;104:259-262.
41. Patel B, Gujraj S, Jefferson K, Evans S, Persad B. Seminal vesicle cysts and associated anomalies. *BJU Int* 2002;90:265-271.
42. Mege JL, Sabatier-Laval E, Mure PY, Vargas B, Dobois R, Tekvoran P, Dodat H. Malformations of wolffian duct derived male genital organs (epididymis, vas deferens, seminal vesicles, ejaculatory ducts). *Prog Urol* 1997;7:262-269.
43. Sheih CP, Hung CS, Wei CF, Lin CY. Cystic dilatations within the pelvis in patients with ipsilateral renal agenesis or dysplasias. *J Urol* 1990;144:324-327.

44. Chen HW, Huang SC, Li YW, Chen SJ, Sheih CP. Magnetic resonance imaging of seminal vesicle cyst associated with ipsilateral urinary anomalies. *J Formos Med Assoc* 2006;105:125-132.
45. Hoscke B, May M, Seehafer M, Helke C. Outlet of a megaureter with aplastic kidney into a seminal vesicle cyst. Case report of laparoscopic intervention. *Urologe A* 2003;42:1092-1096.
46. Hirano A, Ogawa T, Uekado Y, Miyazaki Y, Minakata S, Ohkawa T. A case of seminal vesicle cyst associated with ipsilateral renal dysplasia and ectopic ureter opening into seminal vesicle. *Hinyokika Kyo* 1983;29:1315-1327.
47. Kenney PJ, Leeson MD. Congenital anomalies of the seminal vesicles: spectrum of computed tomographic findings. *Radiology* 1983;149:247-251.
48. Aragona F, D'Urso L, Valotto C, Milani C, Calabro A. Renal agenesis, ureteral ectopia into seminal vesicle, vas deferens agenesis and hemivertebra; an incomplete form of caudal regression syndrome. *Int Urol Nephrol* 1997;29:403-410.
49. Das S, Amar AD. Ureteral ectopia into cystic seminal vesicle with ipsilateral renal dysgenesis and monorchia. *J Urol* 1980;124:574-575.
50. Kılınç F, Güvel S, Eğilmez T, Oğuztürk L, Özkardeş H. Seminal vezikül kisti, kiste açılan ektopik üreter ve aynı tarafta böbrek agenezisi. *Türk Üroloji Dergisi* 2004;30:369-371.
51. Wu HF, Qiao D, Qian LX, Song NH, Hua LX, Zhang W. Congenital agenesis of seminal vesicle. *Asian J Androl* 2005;7:449-452.
52. Vohra S, Morgentaler A. Congenital anomalies of the vas deferens, epididymis and seminal vesicles. *Urology* 1997;49:313-321.
53. Arias-Stella J, Takano-Moron J. Atypical epithelial changes in the seminal vesicle. *Arch Pathol* 1958;66:761-766.
54. Karoly P, Szentirmay Z, Krazsnai G. Cytophotometric investigations on atypical epithelial cells of the human seminal vesicles. *Int Urol Nephrol* 1989;21:399-402.
55. Mesonero CE, Oertel YC. Cells from ejaculatory ducts and seminal vesicles and diagnostic difficulties in prostatic aspirates. *Mod Pathol* 1991;4:723-726.
56. Pannek J, Bergers RR, Sauvegot J, Lecksell KL, Epstein JI, Partin AW. Cell turnover in human seminal vesicles and the prostate; an immunohistochemical study. *Prostate cancer and prostatic disease* 1999;2:200-203.

57. Arber DA, Speight VO. Aneuploidy in benign seminal vesicle epithelium; an example of the paradox of ploidy studies. *Mod Pathol* 1991;4:687-689.
58. Droese M, Voeth C. Cytologic features of seminal vesicle epithelium in aspiration biopsy smears of the prostate. *Acta Cytol* 1976;20:120-125.
59. Jun SY, Kim KR, Cho KS, Ro JY. Localized amyloidosis of seminal vesicle and vas deferens. *J Korean Med Sci* 2003;18:447-454.
60. Pitkanen P, Westermark P, Cornwell GS, Murdoch W. Amyloid of the seminal vesicles; a distinctive and common localized form of senile amyloidosis. *Am J Pathol* 1983;110:64-69.
61. Khan SM, Birch PJ, Bass PS. Localized amyloidosis of the lower genitourinary tract; a clinicopathological and immunohistochemical study of nine cases. *Histopathol* 1992;21:143-147.
62. Ramchandani P, Schnall MD, Li Volsi VA, Tomaszewski JE, Pollack HM. Senile amyloidosis of the seminal vesicles mimicking metastatic spread of prostatic carcinoma on MR images. *Am J Roentgenol* 1993;161:99-100.
63. Kaji Y, Sugimura K, Nagaoka S, Ishida T. Amyloid deposition in seminal vesicles mimicking tumor invasion from bladder cancer: MR findings. *J Comput Assist Tomogr* 1992;16:989-991.
64. Coyne JD, Kealy WF. Seminal vesicles amyloidosis; morphological, histochemical and immunohistochemical observations. *Histopathol* 1993;22:173-177.
65. Maglione M, Nardi A, Cranz C. Acute vesiculitis and its prostatic complications caused by *E. coli* in the rat. *Urol Res* 1986;14:265-266.
66. Eastham JA, Spires K, Abreo F, Johnson JB, Venable DD. Seminal vesicle abscess due to tuberculosis; role of tissue culture in making the diagnosis. *South Med Journal* 1999;92:328-329.
67. Premcumar A, Newhouse JH. Seminal vesicle tuberculosis; CT appearance. *J Comput Assist Tomogr* 1988;12:676-677.
68. Al Saed O, Sheikh M, Kehinde EO, Makar R. Seminal vesicle masses detected incidentally during transrectal sonographic examination of the prostate. *J Clin Ultrasound* 2003;31:201-206.
69. Furuya R, Takahashi A, Furuya S, Kunishima Y, Takayama K, Tsukamoto T. Chlamydial seminal vesiculitis without symptomatic urethritis and epididymitis. *Int J Urol* 2006;13:466-467.



70. Papathanasio A, Voulgaris S, Salpiggidis G, Charalabous S, Fatles G, Rambis V. Hydatid cyst of the seminal vesicle. *Int J Urol* 2006;13:308-310.
71. De Clotz RJ. Echinococcal cyst involving the prostate and seminal vesicles; a case report. *J Urol* 1976;115:116-117.
72. Vellayapan BA, Tiong HY, Chua WJ, Consigliere DT. Seminal vesicle calculus after transurethral resection of ejaculatory duct. *Can J Urol* 2007;14:3595-3597.
73. Kilciler M, Sağlam M, Özgök Y, Somuncu I, Erduran D, Harmankaya C. Giant seminal vesicle Stones. Report of two cases. *Urol Int* 2002;69:250-251.
74. Bostwick DG, Egbert BM, Fajardo LF. Radiation injury of the normal and neoplastic prostate. *Am J Surg Pathol* 1982;6:541-551.
75. Chan TW, Kressel HY. Prostate and seminal vesicles after irradiation; MR appearance. *J Magn Reson Imaging* 1991;1:503-511.
76. Ickowski KA, Parkinson MC, Samaratunga HM, Cheng L, Sesterhenn XJ, Helpap B. Tumours of the seminal vesicles. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Editors). *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. 1st edition IARC Pres. Lyon. 2004;3:214-215.
77. Ormsby AH, Haskell R, Jhones D, Goldblum JR. Primary seminal vesicle carcinoma; an immunohistochemical analysis of four cases. *Mod Pathol* 2000;13:46-51.
78. Epstein JI. The prostate and seminal vesicles. Mills SE, Carter D, Greenson JK, Oberman HA, Reuter V, Stoler MH (Editors). *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. 4th edition. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 2004;45:2083-2133.
79. Rosai J, editor. *Ackerman's Surgical Pathology*. 9th ed. Mosby, St. Louis. 2004;18:1389-1390.
80. Hoshi A, Nakamura E, Higashi S, Segawa T, Ito N, Yamamoto S, Kamato T. Epithelial stromal tumor of the seminal vesicle. *Int J Urol* 2006;13:640-642.
81. Son HJ, Jeong JY, Kim JH. Phyllodes tumor of the seminal vesicle; case report and literature review. *Pathol Int* 2004;54:924-929.
82. Kinas H, Kuhn M. Mesonephric hamartoma of the seminal vesicle a rare cause of retrovesical mass. *NY State J Med* 1987;87:48-49.
83. Laurila P, Leivo I, Maksialo H. Müllerian adenosarcoma-like tumor of the seminal vesicle. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116:1072-1076.

84. Fain JS, Cosnow I, King BF, Zincke H, Bostwick DG. Cystosarcoma phyllodes of the seminal vesicle. *Cancer* 1993; 71: 2055-2061.
85. Baschinsky DY, Niemann TH, Maximo CB, Bahnson RR. Seminal vesicle cystadenoma: a case report and literature review. *Urology* 1998;51:840-845.
86. Fujisawa M, Ishigami J, Kamidono S, Yamanaka N. Adenomyozis of the seminal vesicle with hematospermia. *Hinyokika Kyo* 1993;39:73,76.
87. Mazur MT, Myers JL, Maddox WA. Cystic epithelial-stromal tumor of the seminal vesicle. *Am J Surg Pathol* 1987;11:210-217.
88. Abe H, Nishimura T, Miura T, Uchikoba T, Ohno T, Ishikawa N, Yokoi K, Ohaki Y. Cystosarcoma phylloides of the seminal vesicle. *Int J Urol* 2002;9:599-601.
89. Vigano P, Bonacina P, Strada GR. Leiomyoma of the seminal vesicles. *Arch Ital Urol Androl* 2003;75:230-231.
90. Gentile AT, Moseley HS, Quinn SF, Franzini D, Pitre TM. Leiomyoma of the seminal vesicle. *J Urol* 1994;151:1027-1029.
91. Moseley HS, Quinn SF, Franzini, Pitre TM. Leiomyoma of the seminal vesicles. *J Urol* 1994;151:1027-1029.
92. Amirkhan RH, Molberg KH, Wiley EL, Nurenberg P, Sagalowsky AI. Primary leiomyosarcoma of the seminal vesicle. *Urology*. 1994;44:132-135.
93. Agrawal V, Kumar S, Sharma D, Singh UR, Gupta A. Primary leiomyosarcoma of the seminal vesicle. *Int J Urol* 2004;11:253-255.
94. Sanghvi DA, Purandare RC, Jambhekar NA, Thakur MH, Joshi MS. Primary rhabdomyosarcoma of the seminal vesicle. *Br j Radiol* 2004;77:159-160.
95. Berger AP, Bartsch G, Horninger W. Primary rhabdomyosarcoma of the seminal vesicle. *J Urol* 2002;168:643.
96. Lamont JS, Hesketh PJ, de las Morenas A, Babayan RK. Primary angiosarcoma of the seminal vesicle. *J Urol* 1991;146:165-167.
97. Wei YC, Li CF, Sung MT, Chen YT, Ko SF, Eng HL, Huang HY. Primary mixoid solitary fibrous tumor involving the seminal vesicle. *Path Int* 2006;56:642-644.
98. Wiesner D, Dittert DD, Manseck A, Wirth MP. Large solitary fibrous tumor of the seminal vesicle. *Urology* 2003;62:941.

99. Westra WH, Grenko RT, Epstein J. Solitary fibrous tumor of the lower tract: a report of five cases; involving the seminal vesicles, urinary bladder, and prostate. *Hum Path* 2000;31:63-68.
100. Han P, Wei Q, Yang YR. Neurilemmoma of a seminal vesicle. *Chinese Med Journal* 2007;120:1383-1384.
101. Iqbal N, Zins J, Klienman GW. Schwannoma of the seminal vesicle. *Conn Med* 2002;66:259-260.
102. Latchamsetty KC, Elterman L, Coogan CL. Schwannoma of a seminal vesicle. *Urology* 2002;60:515.
103. Fairey AE, Mead GM, Murphy D, Theaker J. Primary seminal vesicle choriocarcinoma. *Br J Urol* 1993;71:756-757.
104. Soyer P, Rougier P, Gad M, Roche A. Primary carcinoid tumor of the seminal vesicles: CT and MR findings. *J Belge Radiol* 1991;74:117-119.
105. de Paulo AA, Maltez AR, Mota ED. Small round blue cell tumor of seminal vesicle in a young patient. *Int Braz J Urol* 2006;32:566-569.
106. Adachi Y, Rokujyo M, Kojima H, Nagashima K. Primary seminoma of the seminal vesicle: report a,of a case. *J Urol* 1991;146:857-859.
107. Cotran RS, Kumar V, Collins T, (Editors). *Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia. W.B. Saunders Company. 2005;7:269-415.
108. Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. Moleküler, klinik ve tanısal viroloji. 1. Baskı, Ankara. Güneş Kitabevi 2004;22:353-366.
109. Pagano JS, Blaser M, Buendia MA, Damania B, Khalili K, Raab-Traub N, Roizman B. Infectious agents and cancer: criteria for a causal relation. *Seminars in Cancer Biology* 2004;14:453-471.
110. Damania B. DNA tumor viruses and human cancer. *Trend in microbiology*.2007;15:38-44.
111. Butel JS. Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carsinogenesis* 200;21:405-426.
112. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Mikrobiyoloji. 4. Baskı, Asya Tıp Kitabevi, İzmir. 2005;2:305-326.
113. Durmaz R, (Editör). *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*. 2. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, Ankara. 2001;1:15-34.
114. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Mikrobiyoloji. 4. Baskı, İzmir, Asya Tıp Kitabevi. 2005;2:292-293.

115. <http://www.genetiklab.com/yontemler/PZR1.jpg>
116. Telenti A. PCR detection and typing of Epstein-Barr virus. Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, (Editors). *Diagnostic Molecular Microbiology (Principle and Applications)*. 1st Ed. Rochester, Mayo foundation, 1993;7:344-350.
117. Kalkan A, Ozdarendeli A, Bulut Y, Yekeler H, Çobanoğlu B, Doymaz MZ. Investigation of Epstein-Barr virus DNA in formalin-fixed and parafin embedded breast cancer tissues. *Med Princ Pract* 2005;14:268-271.
118. Fedele CG, Ciardi M, Delia S, Echevarria JM, Tenorio J. Multiplex polymerase chain reaction for the simultaneous detection and typing of polyomavirus JC, BK and SV40 DNA in clinical samples. *Virological Methods* 1999;82:137-144.
119. Crawford DH. Biology and disease associations of Epstein- Barr virus. *Phi Trans R Soc Lond* 2001;356:461-476.
120. Niedobitek G, Meru N, Delecluse HJ. Epstein-Barr virus and human malignancies. *Int J Exp Path* 2001;82:149-170.
121. Zheng H, Li L, Hu D, Deng X, Cao Y. Role of Epstein-Barr virus encoded latent membran protein 1 in the carcinogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *Cell Mol Immunology* 2007;4:185-196.
122. Gazzaniga P, VercilloR, Gradilone A, Silvestri I, Gandini O, Napolitano M, Giuliani L, et al. Prevalence of Papillomavirus, Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus, and Herpes Simplex Virus Type 2 in urinary bladder cancer. *J Med Virol* 1998;56:262-267.
123. Chuang CK, Liao SK. Epstein-Barr virus infection in urothelial transitional cell carcinoma tissues. *BJU Int* 2004;93:495-498.
124. Abe T, Shinohara N, Tada M, Harabayashi T, Sazawa A, Maruyama S, Moriuchi T, et al. Infiltration of Epstein-Barr virus-harboring lymphocytes occurs in a large subset of bladder cancers. *Int J Urology* 2008;15:429-434.
125. Eash S, Manley K, Gasparoviç M, Querbes W, Atwood WJ. The human polyomaviruses. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:865-876.
126. Tognon M, Corallini A, Martini F, Negrini M, Barbanti-Bradano G. Oncogenic transformation by BK virus and association with human tumors. *Oncogene* 2003;22:5192-5200.
127. White MK, Khalili K. Polyomaviruses and human cancer: molecular mechanisms underlying patterns of tumorigenesis. *Virology* 2004;324:1-16.

128. Martini F, Corallini A, Balatti V, Sabbioni S, Pancaldi C, Tognon M. Simian virus 40 in humans. *Infectious agents and cancer* 2007;2:1-12.
129. Vilchez RA, Butel JS. Emergent human pathogen simian virus 40 and its role in cancer. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:495-508.
130. Li RM, Mannon RB, Kleiner D, Tsokos M, Bynum M, Kirk AD, Kopp JB. BK virus and SV40 co-infection in polyomavirus nephropathy. *Transplantation* 2002;74:1497-1504.
131. Fioriti D, Pietropaulo V, Dal Forno S, Laurenti C, Chiarini F, Degener AM. Urothelial bladder carcinoma and viral infections different association with human polyomaviruses and papillomaviruses. *Int J Immun.* 2003;16:283-288.
132. Lau SK, Lacey SF, Chen YY, Chen WG, Weis LM. Low frequency of BK virus in prostatic adenocarcinoma. *APMIS* 2007;115:743-749.
133. Weinreb DB, Desman GT, Amolat MJ, Burstein DE, Godbold JH, Johnson EM. Polyomavirus infection is a prominent risk factor for bladder carcinoma in immunocompetent individuals. *Diagn Cytopath.* 2006;34:201-203.
134. Balis V, Sourvinos G, Soultziz N, Giannaki E, Sofras F, Spandidos DA. Prevalence of BK virus and human papillomavirus in human prostate cancer. *Int J Biol Markers* 2007;22:245-251.
135. Rollison DE, Sexton WJ, Rodriguez AR, Kang LC, Daniel E, Shah KV. Lack of BK virus DNA sequences in most transitional cell carcinomas of the bladder. *Int J Cancer* 2007;120:1248-1251.
136. Narayanan M, Szymanski J, Slavcheva E, Rao A, Kelly A, Jones K, Jaffers G. BK virus associated renal cell carcinoma. *Am J Transplantation* 2007;7:1666-1671.
137. Bravo MP, Rey-Calero J, Olivares I, Vizcaino MJ. Antibodies to simian vacuolating virus 40 in bladder cancer patients. *Urol Int.* 1987;42:427-430.
138. De Ture FA, Drylie DM, Kaufman HE, Centifanto YN. Herpesvirus type 2: isolation from seminal vesicle and testes. *Urology* 1976;7:541-544.
139. Centifanto YM, Drylie DM, Deardourf SL, Kaufman HE. Herpesvirus type 2 in the male genitourinary tract. *Science* 1972;178:318-319.
140. Lüleci G, Sakizli M, Günalp A, Erkan I, Remzi D. Herpes simplex virus type 2 neutralization antibodies in patients with cancers of urinary bladder, prostate, and cervix. *J Surg Oncol* 1981;16:327-331.

141. Haid M, Sharon N. Immunoflorescent evidence of prior herpes simplex virus type 2 infection in prostate carcinoma. *Urology* 1984;24:623-625.
142. Bergh J, Marklun I, Gustavson C, Wiklund F, Grönberg H, Allard A, Alexeyev O, Elgh F. No link between viral findings in the prostate and subsequent cancer development. *British J Cancer* 2007;96:137-139.
143. Kaku N, Kashima K, Daa T, Nakayama I, Yokoyama S. Herpes simplex infection in urothelial carcinoma. *Virchows Arch* 2004;445:68-73.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1968' de Suşehri' nde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi aynı yerde yaptıktan sonra 1994' te Erzurum Atatürk Üniversitesi' nde Tıp Fakültesi eğitimimi tamamladım. Mecburi hizmetimi Sinop' ta, askerliğimi Kıbrıs' ta yaptım. 2003 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi' nde Patoloji Anabilim Dalı' nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen bu görevimi sürdürüyorum.